

---

# ANNALES

## DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

Mémoire publié à l'occasion du jubilé de E. Metchnikoff

---

### SULL' AZIONE DEI RAGGI ULTRAVIOLETTI SUI BACTERI

del prof. GINO GALEOTTI.

(Istituto di Patologia generale della R. Università di Napoli.)

Da qualche tempo sono state iniziate nell' Istituto da me diretto varie ricerche, per studiare l'azione dei raggi ultravioletti sui batteri, e, nelle pagine che seguono, riassumerò i risultati fino ad ora ottenuti.

Credo inutile di riferire la bibliografia sull' argomento e dirò solo che, da quando il Marshall-Ward nel 1880 riconobbe, che l'azione battericida della luce è dovuta principalmente ai raggi ultravioletti, che essa contiene, numerosissimi lavori sono stati fatti, per studiare e misurare questo mezzo di disinfezione. Con la costruzione poi della lampada di quarzo a mercurio, tali ricerche entrarono in un campo pratico, poichè la lampada a mercurio è una sorgente fortissima di raggi ultravioletti. Mi basta di citare a questo proposito i lavori di Henri e Cernovodeanu, di Courmont e Nogier, di Schrötter, di Menini, di Vallet, ecc.

Negli esperimenti, a cui adesso accennerò, fu adoperata una

lampada di quarzo Hæreus, fornita dalla casa Westinghouse. Essa lavorava sotto una tensione di 75 volts.

I microorganismi, su cui si sperimentava, venivano emulsionati in differenti liquidi, e poi questi erano versati in vetrini da orologio ed esposti ai raggi della lampada, ad una distanza di circa 20 centimetri: quivi la temperatura dell'aria non saliva mai al di sopra di 30 gradi.

Intercalando e togliendo adatti schermi, si regolava, fino al secondo, l'azione dei raggi ultravioletti sulle emulsioni dei batteri. Lo strato delle emulsioni non era mai più spesso di 2 o 3 millimetri.

A differenti intervalli si facevano poi innesti in agar e si lasciavano le culture ad adatta temperatura e per un tempo sufficiente, a fine di vedere, dallo sviluppo in questi tubi di agar, fino a quando i microorganismi erano rimasti viventi.

## I

Una prima serie di ricerche (1) furono fatte con i bacilli della peste e del colera, sospesi in diversi liquidi: soluzione fisiologica, brodo, orina, siero di sangue, latte.

Inoltre, a fine di vedere se i raggi ultravioletti potessero servire a sterilizzare stoffe infette coi bacilli della peste o del colera, si imbevevano di una emulsione di questi batteri alcuni pezzettini di stoffa sterilizzati, e poi si esponevano ai raggi della lampada a mercurio. Si facevano quindi cadere questi pezzettini di stoffa in tubi di brodo, o si strisciavano sulla superficie di tubi di agar e si notava se nel brodo o sull'agar si avesse alcuno sviluppo.

Da questi esperimenti risultò, che il tempo di esposizione ai raggi ultravioletti, necessario per uccidere i bacilli della peste e del colera, varia considerevolmente a seconda della natura del liquido, in cui i microorganismi sono sospesi.

Se il liquido di sospensione è la semplice soluzione fisiologica, basta circa un minuto di esposizione per uccidere tutti i vibroni colerici, e fra 6 e 10 minuti per uccidere tutti i bacilli della peste.

(1) Ricerche fatte dai Dr. A. Schiavone e G. Trerotoli.

E' necessario qui notare, che questi tempi sono alquanto più lunghi di quelli stabiliti da altri autori per vari microorganismi. Questa differenza dipende forse dal fatto, che si usarono sospensioni piuttosto ricche di microorganismi e così è probabile, che quelli che si trovavano negli strati superficiali del liquido, proteggessero i bacteri sottostanti dall' azione dei raggi ultravioletti.

Se nel liquido, in cui sono sospesi i bacteri, sono contenute altre sostanze organiche, è necessario un tempo d'esposizione ai raggi ultravioletti assai più lungo, affinchè avvenga la morte di tutti i microorganismi. E' così risultato, che son necessari per i *vibrioni del colera* :

30 minuti, se i vibrioni sono sospesi nel siero di sangue;  
2 ore, se i vibrioni sono sospesi nel brodo;  
2 ore, se sono sospesi nell' urina;  
2 ore e 30, se sono sospesi nel latte.

Per i *bacilli della peste* :

15 minuti, se sono sospesi nel brodo,  
1 ora e 30, se sono sospesi nell' urina;  
2 ore e 30, se sono sospesi nel latte;  
più di 3 ore, se sono sospesi nel siero di sangue.

Le stoffe, infettate con i vibrioni colerici o con i bacilli della peste, possono venir facilmente sterilizzate con la esposizione ai raggi ultravioletti per un tempo che varia da quindici a quarantacinque minuti. Questo tempo può essere abbreviato, se si ha cura di voltare le stoffe, in modo da sottoporre all' azione dei raggi ora una faccia ora l'altra della stoffa infetta.

Per riguardo alle applicazioni pratiche della lampada a mercurio, come mezzo di sterilizzazione, si può concludere da questi esperimenti, che facilmente i raggi ultravioletti possono uccidere i microorganismi, che si trovino nell' acqua pura, ma che non si raggiunge affatto lo scopo, se i microorganismi si trovino in liquidi, contenenti sostanze organiche di qualsiasi specie.

Queste sostanze organiche proteggono i bacteri frammisti ad esse, assorbendo i raggi ultravioletti.

In questi casi la uccisione di tutti i bacteri avviene solo, se i liquidi sono disposti in strati sottili e dopo 2 o 3 ore di esposi-



zione ai raggi. Quindi si può concludere, che la lampada a mercurio è praticamente inefficace, quando si pensi di sterilizzare con essa liquidi organici, quale appunto il latte.

## II

Altre ricerche furono fatte (1) con il *bacterium coli*, che è uno dei microorganismi più sensibili all'azione dei raggi ultravioletti (Henri e Cernovadeanu), e, in riguardo a questi batteri, si studiò l'azione protettiva di certe sostanze proteiche e dei loro derivati e di idrati di carbonio.

Si preparavano a tal fine soluzioni diversamente concentrate di caseina, di peptone, di prodotti della idrolisi proteica, di glicocollo, di urato sodico, di colla d'amido, di saccarosio, e a queste soluzioni si aggiungeva, in quantità ben determinata, una fine emulsione culturale di *bacterium coli*. Dopo la esposizione ai raggi ultravioletti per tempi variabili, si facevano, come al solito, gli innesti in tubi di agar.

I risultati di questi esperimenti si possono riassumere nella tabella seguente :

SOSTANZA	CONCENTRAZIONE della SOLUZIONE	TEMPO DI ESPOSIZIONE necessario PER UCCIDERE I GERMI
Acqua . . . . .	0	30 secondi-1 minuto.
Caseina . . . . .	1 p. 100	più di 45 minuti.
Peptone . . . . .	0,6 p. 100	più di 15 minuti.
Prodotti idrolitici dell' albumina . . . . .	»	più di 35 minuti.
Glicocollo . . . . .	4 p. 100	meno di 5 minuti,
Urato sodico . . . . .	1,5 p. 100	1 minuto.
Colla d'amido . . . . .	2 p. 100	1 minuto.
Saccarosio . . . . .	10 p. 100	1 minuto.

Si vede quindi che, tanto la caseina, quanto i derivati delle sostanze proteiche, hanno una grande azione protettiva pei batteri, di fronte ai raggi ultravioletti, ma minore è l'azione protettiva della glicocollo, quasi nulla quella dell' urato sodico, così pure nulla è l'azione protettiva della colla d'amido e della soluzione di saccarosio.

Se si confronta la differenza di comportamento della caseina

(1) Ricerche fatte dal Dr. N. Ricciardi.

dalla colla d'amido, si può concludere, che non è alla natura colloide di queste sostanze, che si deve l'azione protettiva.

Neppure si può dire, che questa azione sia in qualche rapporto con i processi ossidativi, che possono subire le sostanze che si trovano insieme ai bacteri, perchè in questi esperimenti sostanze non molto diverse per la loro ossidabilità, hanno mostrato grandi differenze nel loro potere di protezione.

Si deve quindi concludere, che questa azione protettiva dipende dalla facoltà di assorbimento dei raggi ultravioletti, che alcune sostanze posseggono in alto grado e altre in grado molto minore.

Le sostanze proteiche hanno probabilmente un massimo potere assorbente pei raggi ultravioletti, e per questo difendono così efficacemente i bacteri dall'azione di essi.

### III

Un'altra serie di esperimenti è stata fatta (1) per vedere il risultato dell'azione combinata dei raggi ultravioletti e delle sostanze così dette *fotodinamiche*. A questo scopo si aggiungevano alle solite sospensioni di bacteri, piccole quantità di soluzioni di sostanze fluorescenti (fluorescina, eosina, clorofillain soluzione acquosa colloidale) e poi si esponevano questi liquidi ai raggi della lampada a mercurio. A differenti intervalli di tempo si facevano innesti in tubi di agar. Si facevano poi contemporaneamente due controlli: uno con la stessa sospensione di bacteri, senza aggiunta di sostanze fluorescenti, tenendola esposta ai raggi ultravioletti, l'altro con sospensione di bacteri mescolata all'una o all'altra sostanza fluorescente e tenuta all'oscuro.

Si esperimentò sui seguenti bacteri: b. del tifo, b. coli, b. della peste, b. del colera, b. della difterite, *b. subtilis*, stafilococco piogene, *micrococcus melitensis*, paratifo A, paratifo B.

Risultò che la fluorescina e l'eosina rendono più intensa l'azione dei raggi ultravioletti, poichè i bacteri, sospesi in soluzioni che contengono piccole quantità di queste sostanze fluorescenti (quantità che sono sicuramente innocue, se i bacteri

(1) Ricerche fatte dal Dr. N. Di Jorio.

sono tenuti all' oscuro), muoiono in un tempo alquanto più breve di quello che è necessario, perchè i raggi ultravioletti soli uccidano gli stessi microorganismi, sospesi nell' acqua pura. La clorofilla invece non ha alcuna azione.

#### IV

In una quarta serie di esperimenti (1) fu studiata la motilità dei bacteri, dopo l'azione dei raggi ultravioletti. Questi esperimenti furono eseguiti col b. del tifo, col b. del paratifo A, col b. del paratifo B, col b. del colera, col *b. subtilis*.

Al solito si facevano emulsioni sottili e ben uniformi di questi microorganismi, si mettevano in vetrini da orologio, che erano esposti ai raggi ultravioletti. A determinati intervalli di tempo, si prelevavano delle gocce di questi liquidi, e con esse si facevano contemporaneamente innesti in tubi di agar e preparati a goccia pendente. Questi ultimi erano subito sottoposti all' osservazione microscopica.

Risultò, che i bacilli mostravano ancora vivaci movimenti, quando già non erano più capaci di riprodursi.

Mentre, dopo un tempo d'esposizione variabile da 2 minuti a 7 minuti, ogni attività riproduttiva era scomparsa, i bacteri erano ancora mobili, dopo mezz' ora d'esposizione e talora anche dopo 45 minuti. Il tempo d'irradiazione necessario a renderli immobili era in media dodici volte maggiore di quello necessario a privarli della facoltà riproduttiva.

Nei germi esposti non molto a lungo (10-12 minuti), i movimenti erano ancora vivacissimi: in seguito essi si rallentavano gradatamente, finchè cessavano del tutto.

In due esperimenti, eseguiti col b. del tifo e col vibrione del colera, si stabilì per quanto tempo i germi, resi così incapaci di riprodursi, conservavano la mobilità, dopo cessata l'esposizione ai raggi ultravioletti. A questo scopo si prolungava l'osservazione dei preparati in goccia pendente, per alcuni giorni. Si vide, che i bacteri irradiati solo per il tempo necessario a renderli incapaci di riprodursi, erano mobili ancora dopo tre giorni. La loro mobilità persisteva però meno a lungo, che

(1) Ricerche fatte dal Dr. F. Porcelli-Titone.



quella dei germi non sottoposti ai raggi ultravioletti : mentre i germi, più lungamente irradiati, si conservavano mobili per un tempo più breve e tanto più breve quanto maggiore era stata la durata d'esposizione.

Questi esperimenti mostrano, che i bacteri irradiati sopravvivono alla perdita del loro potere di riproduzione, il quale appare specialmente sensibile all'azione dei raggi ultravioletti.

Inducono inoltre a pensare, come già Renaud aveva affermato, che quest' azione non produca modificazioni grossolane e rapide del protoplasma bacterico, e fanno sperare in una probabile utilità d'usare come vaccini, dei germi ancora vivi, ma resi, in questo modo, incapaci di riprodursi. Su tale argomento infatti sono adesso in corso nuovi esperimenti.

## FERMENTATION MÉTHANIQUE DE L'ALCOOL ÉTHYLIQUE

par V. L. OMELIANSKY (Petrograd).

L'action de l'alcool éthylique sur les microbes a été étudiée à plusieurs reprises, et la bibliographie de cette question est déjà assez étendue. Mais dans la majorité des cas, ce problème a été traité dans la science sous un point de vue quelque peu exclusif, car on se bornait presque à n'envisager que la portée pratique de la question. On sait que l'alcool éthylique est un désinfectant assez usuel qui est employé en médecine et en hygiène pour des buts variés, et à ce point de vue il est d'un intérêt assez notable d'élucider l'action que l'alcool éthylique exerce sur les microbes. On employait habituellement pour de semblables expériences les solutions concentrées dont on se sert dans la pratique, et l'on déterminait le temps nécessaire pour paralyser ou tuer les microbes soumis à leur action. Sans nous arrêter à cette question (elle n'a qu'un rapport indirect avec le problème que nous allons exposer), nous renvoyons toutes les personnes intéressées par elle aux mémoires de Russ (1), de Kurzwelly (2), où sont analysés avec soin tous les travaux concernant l'action désinfectante de l'alcool éthylique.

Mais tout en exerçant, en solutions concentrées, une action toxique sur les microbes, l'alcool éthylique en solutions diluées peut servir de substance nutritive pour les organismes supérieurs aussi bien que pour les microbes. Les recherches entreprises à ce sujet ne sont pas bien nombreuses; nous nous arrêterons seulement à celles qui ont pour but d'élucider la valeur nutritive de l'alcool éthylique pour les microbes (3).

(1) RUSS, *Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Originale*, Bd XXXVII, p. 115 et 280 (1914).

(2) KURZWELLY, *Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik*, Bd XXXVIII (1903).

(3) Pour l'analyse des travaux consacrés à l'étude de la valeur nutritive que l'alcool éthylique présente pour l'homme, voir les mémoires de Duclaux, *Ann. de l'Institut Pasteur*, vol. XVI, p. 857 (1902) et vol. XVII, p. 170 (1903).



Les premiers auteurs qui s'étaient occupés de cette question avaient montré que, même employé en solutions peu concentrées (par exemple, en solution à 2 p. 100), l'alcool éthylique entrave ou même arrête le développement des microbes [Buchholz (1)]. Mais cette conclusion n'a pas tardé à être réfutée par les auteurs ultérieurs qui ont démontré que l'alcool éthylique en solutions peu concentrées peut exercer sur certains microbes une action nutritive qui ne le cède en rien à celle du sucre, substance douée d'un pouvoir nutritif si élevé.

Les recherches comparées de Lœw (2) ont établi que la valeur nutritive des alcools homologues de la série grasse va en s'abaissant au fur et à mesure qu'en augmente le poids moléculaire (par allongement de la chaîne carbonée ouverte); voilà pourquoi l'alcool éthylique présente pour les microbes une substance nutritive d'une valeur plus élevée que ne le sont, par exemple, l'alcool amylique et les autres alcools supérieurs. La propriété de pulluler sur solutions alcooliques est très accusée chez certaines espèces, par exemple chez les bactéries acédifiantes (optimum de pullulation sur milieu contenant jusqu'à 5 p. 100 d'alcool éthylique) et les champignons de la levure du genre *Mycoderma*. Lœw (3) a décrit en 1902 une espèce très intéressante au point de vue physiologique, à savoir le *Bac. methylicus* qui pullule parfaitement sur solutions diluées d'alcools méthylique et éthylique. L'alcool éthylique peut servir de source de nutrition carbonée pour certaines bactéries fixant l'azote, par exemple pour l'*Azotobacter chroococcus* [Beijerinck (4)]. D'après les recherches de Wirgin (5), l'alcool éthylique, ajouté en petite quantité au milieu nutritif, rend notablement plus énergique le développement du *Bac. fluorescens liquefaciens* et du bacille pyocyanique; cet auteur est même d'avis que non seulement l'alcool stimule la croissance de ces microbes, comme l'avaient supposé quelques auteurs, mais encore qu'il est employé par eux en qualité de matière nutritive véritable.

(1) BUCHHOLZ, *Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, Bd IV, p. 1 (1875).

(2) LOEW, *Die chemische Energie der lebenden Zellen*, 2<sup>e</sup> édit., p. 36 (1906).

(3) LOEW, *Centralbl. f. Bakt.*, Abt. I, Bd XII, p. 463 (1892).

(4) BEIJERINCK, *Centralbl. f. Bakt.*, Abt. II, Bd VII, p. 570 (1901).

(5) WIRGIN, *Zeitschr. f. Hyg.*, Bd XL, p. 307 (1902).

Les solutions diluées d'alcool éthylique constituent un assez bon milieu de culture pour quelques bactéries dénitrifiantes [Beijerinck (1)], levures et champignons [Lindner (2)]. Les moisissures des genres *Penicillium* et *Aspergillus* pullulent bien sur une solution d'alcool méthylique à 3 p. 100 qu'elles décomposent énergiquement. En revanche, le développement des moisissures du genre *Mucor* est entravé même par une solution très diluée d'alcool [Wehmer (3)].

Les quelques exemples que nous venons de rapporter suffisent déjà, ce nous semble, pour démontrer la non-justesse de l'opinion d'après laquelle l'alcool éthylique agit sur les microbes exclusivement en qualité de poison. A n'en pas douter, cet alcool sert dans nombre de cas pour les microbes en qualité de substance nutritive et de matière énergétique.

Les recherches sus-mentionnées ont laissé complètement de côté la question de la décomposition anaérobie de l'alcool éthylique. Celle-ci est-elle possible, et les micro-organismes anaérobies peuvent-ils se contenter de l'alcool éthylique comme source unique de carbone et d'énergie? Pour résoudre cette question il fallait provoquer la décomposition anaérobie de l'alcool éthylique dans une solution purement minérale, en l'absence de toute autre substance organique. Ce fut là le but de notre expérience.

Nous avons préparé le milieu nutritif de la composition que voici :

Eau distillée . . . . .	100 cent. cubes.
Phosphate de potassium . . . . .	0,1 gramme.
Sulfate de magnésie . . . . .	0,05 gramme.
Phosphate d'ammonium . . . . .	0,1 gramme.
Sel de cuisine . . . . .	Traces.

C'est avec cette solution que nous avons rempli tout entier un matras à col long, muni d'un tube latéral pour recueillir les gaz. Nous avons mis dans le matras une petite quantité de craie pour neutraliser les acides qui pourraient se dégager. Ayant stérilisé le liquide, nous y avons ajouté, après refroidissement, l'alcool éthylique au taux de 1 p. 100.

(1) BEIJERINCK, *Centralbl. f. Bakt.*, Abt. II, Bd XXV, p. 35 (1909).

(2) LINDNER, *Wochenschr. f. Brauerei*, Jahrg. XXX, p. 457 (1913).

(3) WEHMER, *Centralbl. f. Bakt.*, Abt. II, Bd XIV, p. 556 (1905).

Nous avons employé au début, pour l'ensemencement, une poignée de terre grasse provenant du potager de l'Institut de médecine expérimentale; mais, malgré l'inoculation répétée à deux reprises, il ne survint point de fermentation, et le liquide ne fut pas troublé. Un résultat positif fut obtenu seulement lorsque nous nous servîmes pour l'ensemencement des matières fécales d'un lapin qui avait reçu pendant deux semaines une solution d'alcool éthylique, d'abord à 1 p. 100 et ensuite à 2 p. 100. Dès le dixième jour se déclara dans ce cas, à 30 degrés centigrades, une fermentation assez énergique qui persistait pendant un mois. Le gaz recueilli deux semaines après le commencement de la fermentation était composé de : 11,5 p. 100  $\text{CO}_2$ , 87,4 p. 100  $\text{CH}_4$ , et 1,1 p. 100  $\text{H}_2$ .

La matière recueillie au fond de ce matras fut ensemencée dans un nouveau matras rempli du même milieu minéral. La fermentation se déclara au bout d'une semaine, et elle fut très énergique. Le gaz était composé exclusivement d'acide carbonique (12 p. 100) et de méthane (88 p. 100), et l'hydrogène y faisait complètement défaut. Il en était de même avec le gaz formé par les générations ultérieures, le méthane prédominait invariablement d'une manière très accusée (il s'élevait parfois à 97,5 p. 100).

De la sorte nous avons réussi à provoquer la fermentation méthanique de l'alcool éthylique dans un milieu nutritif minéral dépourvu de toute autre matière organique. Dans les liquides de même composition, mais ne contenant guère d'alcool éthylique, la fermentation a toujours fait défaut. Le liquide où la fermentation avait déjà cessé était-il additionné d'une nouvelle quantité d'alcool éthylique, la fermentation se déclarait de nouveau avec la même énergie. Lorsqu'elle cessait, le liquide ne contenait plus d'alcool.

Cette fermentation, tout en conservant les traits typiques, a persisté pendant plus d'un an dans une série de générations. La culture faiblissait-elle et la fermentation se ralentissait-elle, nous stimulions le développement des agents de celle-ci en ajoutant au milieu une petite quantité d'une infusion de foin (décoction de 1 gramme de foin par litre d'eau). La fermentation ne tardait pas à survenir dans ces conditions, mais la culture était notablement souillée par des espèces bac-



tériennes étrangères, par suite de l'abaissement des propriétés électives dont le milieu avait été doué. Voilà pourquoi nous n'eûmes recours à ce moyen qu'en cas de besoin extrême, et nous donnâmes la préférence à la solution minérale sus-décrite.

Nos expériences ultérieures ont montré qu'on réussit parfois à provoquer la même fermentation en ensemençant le matras avec de la terre de potager. Nous avons obtenu un résultat



Agent de la décomposition méthanique de l'alcool éthylique.

positif en employant pour l'ensemencement de la terre provenant du gouvernement de Volhynie. La fermentation présentait le même caractère que celle provoquée par les matières fécales de lapin.

Dans le stade initial des recherches accomplies jusqu'à présent, nous nous sommes borné à instituer des expériences pour enrichir la culture en microbes spécifiques et à examiner ces micro-organismes. Ils se présentent sous forme de bacilles très minces et assez longs, légèrement courbés, dépourvus de spores. La figure ci-dessus en donne le microphotogramme à un grossissement de 1.000. Cette espèce microbienne prédominait dans la culture à un point tel que c'est elle incontestablement qui constituait l'agent pathogène de la décomposition méthanique subie par l'alcool éthylique.

## TRANSMISSION DE LA LÈPRE

### PAR LES MOUCHES (*MUSCA DOMESTICA*)

par E. MARCHOUX.

Par conception hypothétique, bien des auteurs ont accusé les insectes d'être les agents vecteurs du virus lépreux. Nous avons examiné la question ailleurs, en ce qui concerne les anthropodes piqueurs ou parasites (1), nous n'y reviendrons pas ici. Mais parmi les insectes non piqueurs, il y en a qui doivent plus particulièrement attirer notre attention, ce sont les mouches. Incriminées à juste titre de véhiculer les germes de la tuberculose, du choléra et de la fièvre typhoïde, elles pourraient bien jouer le même rôle vis-à-vis de la lèpre.

L'idée n'est pas neuve, R. Blanchard (2) pense que Linné et Rolander ont considéré *Chlorops (Musca) lepre* comme capable de transmettre la lèpre.

La Commission de la lèpre pour les Indes (3) conteste à ces insectes tout pouvoir de propagation parce que, sur dix mouches placées sur des ulcères riches en bacilles lépreux, aucune ne renfermait de germes spécifiques.

Corredor (4) parle d'un Indien qui aurait contracté la lèpre au voisinage de lépreux, dont les ulcères étaient fréquentés par de nombreuses mouches qui venaient ensuite se poser sur lui.

Joly (5), dans un rapport sur la pathologie de Madagascar, écrit : « J'ai vu des malades atteints de lèpre tuberculeuse,

(1) L. MARCHOUX, La lèpre. *Revue d'Hygiène et de police sanitaire*, t. XXXV, n° 8, août 1913, p. 883.

(2) R. BLANCHARD, *Zool. méd.*, p. 497.

(3) *The Lancet*, 13 mai 1893.

(4) CORREDOR, *Revista med. de Bogota*, n° 201, 1883 cité par NUTTALL, *John Hopkins Hosp. rep.*, t. VIII, 1899.

(5) JOLY, Mission hydrographique de la Rance. *Archives de médecine navale*, t. LXXV, 1904, p. 460.

supporter sur leurs plaies, sans même y prêter attention, des légions de mouches. Or ces mouches se répandent ensuite de tous côtés, viennent se poser sur une simple écorchure, une blessure légère non protégée, comme en ont si souvent aux jambes les indigènes marchant nus dans la brousse; et voilà le bacille ensemencé. »

Tucker (1) croit, sans en fournir la preuve, que les mouches jouent un rôle dans la dissémination de la lèpre.

Römer (2) a trouvé des bacilles lépreux, soit isolés, soit groupés en faisceaux caractéristiques, dans des préparations faites avec des mouches domestiques prises dans les dortoirs de la léproserie de Medan (Sumatra).

Clift (3), dans une lettre parue en 1907, dit qu'il est disposé à croire que, comme la tuberculose, la lèpre se transmet par le tube digestif. Les mouches, si fréquentes en Chine où il observe, transportent les bacilles des ulcères sur les aliments et en particulier sur les poissons dont se nourrissent les Chinois.

Wm B. Wherry (4) décida de s'assurer expérimentalement si ces odieux diptères méritent le reproche qu'on leur adresse. Il observa que des larves nourries sur un cadavre de rat lépreux se gorgeaient de bacilles, mais s'en débarrassaient très vite dès qu'on leur donnait un autre aliment. Si on les maintenait sur milieu infecté, on trouvait encore des bacilles chez les pupes et même, pour un cas, chez un imago dans les premières vingt-quatre heures de sa métamorphose. Les insectes parfaits absorbent beaucoup de germes qu'ils rendent avec leurs excréments.

Nash (5), Duque (6) expriment l'opinion que la lèpre peut être convoyée par les mouches.

D. H. Currie (7) a repris les expériences de Wherry et a

(1) TUCKER, A contribution to the discussion on the etiology of lepra. *Indian lancet*, 1903, p. 830, et *Baumgarten's Jahresbericht*, t. XIX, p. 333.

(2) R. RÖMER, La lèpre. *Bull. de l'Acad. roy. de méd. de Belgique*, 27 janv. 1906, p. 99, et *Lepra*, t. VI, p. 258.

(3) CLIFT, *Brit. med. Journ.*, avril 1907, p. 931.

(4) WM B. WHERRY, Further notes on rat leprosy and on the fate of human and rat lepra bacilli in flies. *Journ. of inf. dis.*, t. V, 1908, p. 507.

(5) NASH, House flies. *Journ. of hyg.*, t. IX, 1909, p. 161.

(6) DUQUE, *Sanidad y Beneficencia*, juin 1909.

(7) DONALD H. CURRIE, Flies in relation to the transmission of leprosy. *U. S. public health bull.*, sept. 1910, n° 39, p. 21.



constaté que *Musca domestica* conserve dans l'intestin les bacilles qu'elle a absorbés, plus longtemps (4 jours) que des mouches d'autres espèces telles que *Sarcophaga pallinervis*, *S. barbata*, *Volucella obesa* et une espèce indéterminée de *Lucilia*. Les recherches ont été faites avec le bacille de Møller et aussi avec de la sérosité d'ulcères lépreux. Il conclut de ses observations que les mouches peuvent transporter des germes, mais il se demande si ces bacilles restent vivants dans l'intestin des insectes.

Lindsay Sandes (1) a placé 70 mouches sur un ulcère lépreux. Il n'a trouvé que deux bacilles dans l'intestin de l'une d'entre elles, et un seul chez une autre.

Lebœuf (2), en Nouvelle-Calédonie, a capturé des mouches qui s'étaient gorgées sur des ulcères préalablement reconnus bacillifères. Tous ces insectes avaient de nombreux bacilles de Hansen dans l'intestin, encore 24 et même 36 heures après leur repas. Leurs déjections en renfermaient aussi de grandes quantités. Un certain nombre de mouches prises au hasard parmi celles qui fréquentaient l'infirmerie des lépreux, portaient aussi dans l'intestin de nombreux germes disposés en globies caractéristiques. De ces recherches Lebœuf conclut que les mouches sont des agents actifs de dissémination du bacille de Hansen. Si la lèpre ne se transmet pas davantage, cela tient à ce que les mouches ne s'écartent guère de l'endroit où elles trouvent une abondante nourriture. Mais il considère que les bacilles contenus dans le tractus intestinal sont vivants car, dit-il, « l'excellent état extérieur des microbes, leur homogénéité, leur parfaite aptitude à la coloration et, plus encore, un allongement de quelques éléments hors des globies, sorte de culture en réduction, laissent à présumer qu'ils ont conservé toutes leurs propriétés vitales ».

De toutes ces observations, il résulte que les mouches et, en particulier, les mouches domestiques peuvent absorber des quantités de bacilles de Hansen en se nourrissant sur des

(1) LINDSAY SANDES. The mode of transmission of leprosy, *Lepra*, t. XII, 1911, p. 67.

(2) A. LEBŒUF, Dissémination du bacille de Hansen par la mouche domestique. *Bull. Soc. Path. Exot.*, t. V, 1912, p. 860.

ulcères ou des mucosités bacillifères; qu'elles conservent pendant plusieurs jours de nombreux germes, dans l'intestin et qu'elles en émettent avec leurs déjections. D'après Lebœuf, ces bacilles lépreux ne périraient vraisemblablement pas pendant leur séjour chez l'insecte et pourraient servir à transmettre la lèpre, si la mouche infestée déposait ses excréments sur une écorchure, sur une plaie ou sur certaines muqueuses de personnes saines vivant au voisinage immédiat de lépreux.

Malheureusement, cette hypothèse n'a pas été vérifiée expérimentalement soit parce que les observations, comme celles de D. Curie et de Lebœuf, ont été faites à l'aide du bacille de la lèpre humaine, qui n'est pas inoculable aux animaux, soit parce que, comme dans celles de Wherry, l'inoculation a été faite au cobaye, animal réfractaire au virus lépreux du rat. Il est, cependant, pour la prophylaxie, d'un intérêt capital d'être fixé. C'est dans le but de recueillir quelques précisions à ce sujet que nous avons entrepris les recherches que nous allons exposer.

La lèpre murine et la sensibilité des rats au virus nous fournissent des éléments d'étude qui nous manquent avec la lèpre humaine.

Pour une première expérience, nous avons enfermé, dans un même bocal, du matériel infectant, des mouches et des rats blessés.

Le *bocal* était un seau en verre de 15 litres, sur le liseré duquel était fixée une manche en tulle à coulisse.

Le *matériel septique*, formé d'une pulpe légèrement pâteuse, avait été obtenu par broyage de ganglions volumineux retirés à des rats fortement infectés. Conservée à la glacière elle est restée à peu près pure. Les bacilles de Stefansky s'y rencontraient en quantités innombrables.

Les *mouches*, capturées au laboratoire, appartenaient toutes à l'espèce *Musca domestica*. Elles avaient été soumises à un jeûne de 12 heures avant d'être mises en présence de la pulpe ganglionnaire.

Comme *rats d'expérience*, nous avons utilisé les rats blancs d'élevage qui, nous le savons, sont très sensibles à la lèpre. On leur avait fait, d'un coup de ciseaux, une boutonnière de 1 cen-

timètre sur le dos. Les animaux en expérience étaient maintenus par un appareil de contention. Celui qui nous a donné toute satisfaction est un cylindre fenêtré, composé de lamelles métalliques articulées entre elles et disposées en losanges extensibles. La section du cylindre et sa longueur varient beaucoup suivant la position des lames. Quand on exerce une pression suivant l'axe, les lames décrivent des losanges très fermés dont la plus grande diagonale est une portion de circonférence. La surface de section est maxima.

Au contraire, quand, en comprimant le cylindre par sa périphérie, les losanges s'allongent parallèlement à l'axe, la surface de section tend vers le minimum.

Les lames extrêmes sont légèrement recourbées si bien que l'appareil a plutôt la forme d'un barillet que d'un cylindre.

D'un seul coup, par une simple pression de la main, on enferme le rat et on le saucissonne. L'animal est fixé et immobilisé sans être gêné pour respirer. Les courbures des extrémités amènent les lames à se joindre en ces deux points et contribuent à empêcher le rat de s'échapper.

18 juin 1913. — 200 mouches enfermées dans un bocal depuis 12 heures reçoivent un peu de pulpe septique déposée sur une boîte de Petri. Les insectes se jettent sur la nourriture qui leur est offerte.

19 juin. — Quelques-unes des mouches sont disséquées. L'intestin est rempli d'une matière rougeâtre formée de pulpe ganglionnaire contenant une masse énorme de bacilles acido-résistants.

On donne dans la matinée un deuxième repas de matériel septique aux insectes.

Un rat blanc auquel on a fait une boutonnière sur le dos est exposé dans le bocal de 2 heures à 6 heures du soir.

Cet animal a été autopsié le 10 octobre 1913, c'est-à-dire 4 mois après l'expérience. *Il était infecté.*

20 juin. — Un autre rat est placé dans le bocal de la même façon que celui de la veille. Les mouches n'ont plus à leur disposition de matériel septique. Elles n'ont pas d'autre nourriture que de l'eau et du sucre.

Le rat, autopsié le 6 octobre, c'est-à-dire à peu près à la même époque que la précédente, *n'est pas infecté.*

21 juin. — Un troisième rat est déposé dans le bocal. Les mouches ne disposent toujours que d'eau et de sucre.

Autopsié le 3 octobre, ce rat *n'est pas infecté.*

Dans cette expérience, seul a été infecté le rat qui se trouvait dans le bocal en même temps que le matériel septique. Lorsque les insectes n'eurent plus à leur disposition que de l'eau et du sucre, ils cessèrent d'être infectants.



On pourrait donc de ce qui précède conclure que les mouches véhiculent des germes avec leurs pattes et leur trompe et déposent le matériel septique sur le rat exposé, mais que la dessiccation les débarrasse très vite du virus dont elles sont souillées. Nous savons, en effet, que le bacille de Stefansky ne résiste pas à la dessiccation.

On pouvait se demander d'autre part si, seul, le premier rat n'avait pas été visité par les mouches, les deux autres étant demeurés indemnes parce qu'aucun insecte n'était venu les contaminer.

Dans l'expérience suivante nous nous sommes assuré que les mouches étaient bien venues sur le rat d'expérience.

6 juin 1913. — 200 mouches, jeûnant depuis 12 heures, sont nourries avec de la pulpe chargée de bacilles acido-résistants. Un rat, portant une petite plaie sur le dos, est placé dans le bocal à deux reprises : 1<sup>o</sup> de 11 heures à midi, 10 mouches ont visité la plaie; 2<sup>o</sup> de 4 heures du soir à 4 h. 1/2, 8 mouches sont venues sur le rat. Tous ces insectes repus se sont posés sur le rat comme ils auraient fait ailleurs, se promenant sans chercher à s'alimenter. Ce rat est mort le 25 décembre 1913. *Il était très infecté.*

7 juin. — Les mouches n'ont plus à leur disposition que de l'eau et du sucre. Un deuxième rat est placé dans le bocal de 2 heures à 3 heures du soir; 13 mouches ont visité la plaie qu'il portait sur le dos. Les insectes, au contraire de ce qui s'est passé hier, se sont nourris sur le rat de sang et de lymph. Le rat est mort le 4 février 1914. *Il n'était pas infecté.*

Cette expérience complète la précédente et montre que les mouches sont capables de convoier des bacilles seulement quand leurs pattes et leurs trompes sont récemment souillées. Leur contact a été, avec le 2<sup>e</sup> rat, plus intime et plus prolongé qu'avec le 1<sup>er</sup>, et cependant, alors que le 1<sup>er</sup> a été infecté, le 2<sup>e</sup> est resté indemne. Seulement le 2<sup>e</sup> jour les bacilles que nos diptères pouvaient encore porter sur la trompe ou les pattes étaient desséchés et par conséquent morts.

Restait à savoir si les germes enfermés dans l'intestin étaient encore vivants. Pour nous en assurer, nous avons disséqué un certain nombre de mouches après leur repas infectant et nous en avons introduit l'intestin sous la peau de quelques rats, 1, 2, 4 jours plus tard.

Après 1 jour : 31 mai 1913. — Une centaine de mouches ont été nourries hier avec de la pulpe ganglionnaire très riche en bacilles acido-résistants. 10 d'entre elles sont capturées aujourd'hui et disséquées. L'intestin est rempli de matières alimentaires chargées d'acido-résistants. On isole

7 intestins qui sont séparés en deux lots, l'un de 3, l'autre de 4. L'un et l'autre sont insérés sous la peau de 2 rats neufs. Le premier de ces rats meurt le 26 juin. *Quelques bacilles acido-résistants dans le ganglion inguinal droit.* Le deuxième meurt le 15 octobre. *Il est sérieusement infecté.*

**Après 2 jours : Première expérience.** — Le 22 mai on donne à des mouches de la pulpe ganglionnaire remplie d'acido-résistants.

Le 23, le matériel est desséché. On le retire et on ne laisse dans le bocal que de l'eau et du sucre.

Le 24, on dissèque 4 mouches. 2 n'ont qu'un petit nombre d'acido-résistants dans l'intestin, ce sont des mâles; 2 femelles ont l'intestin distendu par une matière rougeâtre qui est de la pulpe ganglionnaire. L'un de ces deux derniers intestins est introduit sous la peau d'un rat neuf. Ce rat meurt le 27 février 1914 *très infecté.*

**Deuxième expérience.** — Le 1<sup>er</sup> juin, 17 mouches, nourries le 30 mai avec de la pulpe ganglionnaire et laissées depuis cette date à l'eau et au sucre, sont disséquées. Un rat reçoit 4 intestins, 2 provenant de femelles et bien remplis, 2 extraits à des mâles et renfermant peu de matériel. Ce rat meurt le 12 novembre 1913 *très infecté.*

**Après 4 jours :** Le 26 mai, 9 mouches, nourries le 22 avec de la pulpe ganglionnaire, sont disséquées. L'intestin est vide chez les mâles. Dans le tube digestif des femelles il reste quelques matières jaunâtres. Au milieu de beaucoup d'autres microbes, on voit un certain nombre d'acido-résistants. 4 intestins de femelles sont introduits sous la peau d'un rat neuf. Cet animal meurt le 5 janvier 1914 *très infecté.*

De cette expérience, il résulte :

1° Que les femelles absorbent plus de matériel septique que les mâles et qu'elles en conservent plus longtemps dans l'intestin;

2° Que le bacille de Stefansky se garde vivant dans le tube digestif des mouches pendant au moins 4 jours. Les éléments microbiens semblent augmenter de nombre parce que, contrairement aux substances azotées dans lesquelles ils sont contenus, ils ne sont pas attaqués par les liquides digestifs. Ils se concentrent dans une masse de plus en plus faible, mais ils ne se multiplient pas.

Nous n'avons pas d'inoculation d'excréments de mouches, parce qu'il est très difficile de les recueillir frais et que la dessiccation est un agent très actif de destruction des bacilles de Stefansky. Mais il ne nous paraît pas douteux que, si des excréments frais sont émis par des insectes sur une plaie, l'infection puisse se faire aussi sûrement que par l'introduction sous la peau du contenu intestinal.

Il semble, toutefois, que cette éventualité se produise moins communément que quelques auteurs ne l'avaient cru.

Les expériences que nous avons faites, en exposant aux mouches des rats blessés, montrent que, même quand ils se nourrissent sur la plaie, les insectes éloignés depuis 24 heures du matériel septique demeurent inoffensifs. L'émission d'excréments au moment du repas reste donc une exception et ne doit pas être érigée en règle générale.

En résumé : 1° Les mouches véhiculent les germes de la lèpre sur leurs pattes et sur leur trompe.

2° Les bacilles ne meurent pas dans l'intestin de ces diptères.

3° Il n'y a pas émission d'excréments chaque fois qu'une mouche se nourrit.

4° L'infection se fait dans le voisinage du malade, non pas parce que les mouches ne s'en éloignent pas, mais parce que, quand elles s'en éloignent, les germes déposés sur la carapace se dessèchent vite et meurent.



## UN THERMORÉGULATEUR A EAU

par L. HEYDENREICH,

Docteur en médecine, à Odessa.

Il existe, même dans les plus grandes villes, des habitations qui n'ont ni gaz, ni électricité. Quiconque voudrait, dans ces conditions, s'occuper de microbiologie, trouverait bientôt bien des difficultés, car pour un travail utile il serait privé d'un thermorégulateur de précision. Comme je me suis trouvé temporairement justement dans ces conditions et comme les régulateurs à capsule ne me satisfaisaient point, je suis tombé sur la simple idée de me servir, au lieu de gaz ou d'électricité, de l'eau en qualité de productrice de pression, et non de dilatation comme on le faisait jusqu'à présent.

J'obtins bientôt des résultats si satisfaisants que je n'hésite pas à les placer au même niveau que ceux obtenus avec l'électricité ou le gaz. Les oscillations n'atteignent que quelques dixièmes de degré, même sous l'action des changements de pression barométrique. Je pense donc être en droit de publier, dès maintenant, la construction du thermorégulateur et de son fonctionnement, d'autant plus que la dépense pendant le travail n'atteint pas, à beaucoup près, celles de l'électricité ou du gaz.

Avant tout, le *thermostat*. Certainement le moins coûteux serait de le faire rond et en zinc. Mais la pratique bactériologique a bientôt abandonné la forme ronde, principalement parce qu'elle était incommode pendant le travail et que, en ouvrant le couvercle, la chaleur s'en allait très vite et demandait trop de temps pour revenir à sa température primitive. En outre la répartition de la température dans le récipient en zinc se fait beaucoup moins uniformément qu'avec le cuivre. Moitié cuivre, moitié zinc, ne peut se faire à cause des courants galvaniques, qui produiraient bien vite de l'usure et des dégâts sérieux. Enfin il faut encore tenir compte de ce que le zinc

est environ trois fois plus mauvais conducteur de la chaleur que le cuivre.

Donc il ne reste que la forme quadrangulaire et la construction en cuivre. De semblables thermostats se trouvent en quantité dans le commerce et de qualité tout à fait supérieure. Seulement, il est à désirer que les fabricants cessent enfin de polir les parois ondulées intérieures. Plus le cuivre brille d'un vif éclat, plus ils croient contenter leurs acheteurs. C'est une erreur. C'est aussi erroné que de faire la fente dans le régulateur de Reichert longue, ou de mettre mes boîtes (1) avec gélatine, nommées depuis boîtes de Petri, au-dessus de la glace, au lieu de les mettre en dessous (car l'air froid ne monte jamais en haut; au contraire, il descend), et pourtant cette erreur est encore très répandue en Allemagne. Une surface ondulée bien polie, en cuivre, rayonne la chaleur à peu près huit fois moins bien que la même surface mate ou granuleuse.

Il s'ensuit donc que la forme quadrangulaire d'un thermostat en cuivre devra être construite avec des parois ondulées et mates, non polies.

Il est vrai que la différence de prix entre les deux thermostats est assez grande, mais la commodité pendant le travail, la meilleure distribution de la température à l'intérieur, la durée plus grande de l'appareil, et enfin l'économie dans le fonctionnement, tous ces avantages devraient ne pas faire reculer l'acheteur devant le prix.

La *cheminée*, qui se trouve au-dessus de la lampe à pétrole, est munie d'une soupape portée par un axe (fig. 4., 2). Cette cheminée a un embranchement à droite, sous un angle de 45 degrés. En faisant tourner cet axe de l'extérieur (3) entre les doigts, on peut ouvrir et fermer l'ouverture entre les deux cheminées par la soupape et donner accès à la chaleur de la lampe dans le thermostat, ou bien, en fermant

(1) Je les ai décrites le premier et m'en suis servi au laboratoire même de Koch, en 1884. J'en avais parlé à feu le professeur Duclaux, pendant mes travaux au laboratoire de Pasteur (rue d'Ulm). C'est en 1885 que je les décrivis, dans la première édition de mes *Méthodes de recherches des microbes*, p. 101 et 126, en russe. J'y ajoutais des dessins. Deux ans plus tard, les mêmes boîtes furent décrites par Petri, dans le *Centralblatt für Bakteriologie*, 1887, t. I, n° 9, p. 279. La même année encore, Macé en parla (*Traité prat. de Bactériologie*, 3<sup>e</sup> éd., 1887, p. 232).

la soupape, faire échapper la chaleur par l'embranchement à droite. Dans ce cas, le thermostat se refroidira certainement. L'amplitude du va-et-vient de la soupape égale à peu près 50 à 60 degrés.

Si l'on attache à l'axe de la soupape, à l'extérieur de la cheminée (fig. 2., 7), une tige et à l'extrémité de celle-ci, à droite, une autre tige articulée, portant un petit cylindre (fig. 2., 3), on pourra aussi faire jouer la soupape, en levant ou abaissant ce petit cylindre. Ce dernier mouvement, très important pour le fonctionnement de l'appareil, se produit par le relèvement et l'abaissement du mercure dans le tube 4, et celui-ci par le remplissage et l'évacuation d'une colonne d'eau en 5 et 6 (fig. 2.), qui se font automatiquement. La colonne d'eau a une hauteur d'environ 130 centimètres. Cette partie : 3, 4, 5, 6 (fig. 2.), c'est-à-dire *le tube en V* et *le tube à boule*, joue un rôle fondamental dans l'appareil.

Pour faire fonctionner le jeu automatique par lequel l'appareil se remplit d'eau et se vide, il y a un *régulateur* (fig. 3.) (1). Avant de s'en servir on verse, par les tubes 3 et 2, du chlorure de méthylène dans le réservoir 1, jusqu'à ce qu'il atteigne la hauteur de 4 centimètres environ. Ensuite on y verse du mercure jusqu'à 5 ou 6 centimètres de hauteur; enfin, après avoir bouché toutes les ouvertures, excepté le haut de 3, on y comprime, à l'aide d'une pompe de vélocipède, assez d'air pour que le mercure puisse monter jusqu'à 55-56 centimètres, en comptant du fond du réservoir. Comme toute la longueur de la tige 2 comprend 76 centimètres jusqu'à la bifurcation, le niveau du mercure sera à la distance de 20 à 21 centimètres de cette bifurcation. Si maintenant le réservoir du régulateur est plongé dans une eau à 37 degrés, le mercure montera jusqu'à la bifurcation en remplissant, chemin faisant, le petit réservoir de la vis de réglage 4. Pour faire encore monter ou baisser un peu le mercure on n'a qu'à tourner la vis 4, et, pour rendre le régulateur encore plus sensible, on peut envoyer dans le réservoir de l'hydrogène au lieu d'air. Cette dernière opération se fait assez facilement à l'aide d'un cylindre d'hydrogène sous

(1) Je l'ai décrit, dans mon livre *Méthodes de recherches des Bactéries*, 2<sup>e</sup> éd., 1885, p. 122 (en russe) et encore dans la *Zeitschrift für wissensch. Microscopie*, 1892, t. IX, p. 301 (en allemand).

pression et d'une pompe aspirante. L'hydrogène est un conducteur de chaleur à peu près trois fois meilleur que l'air.

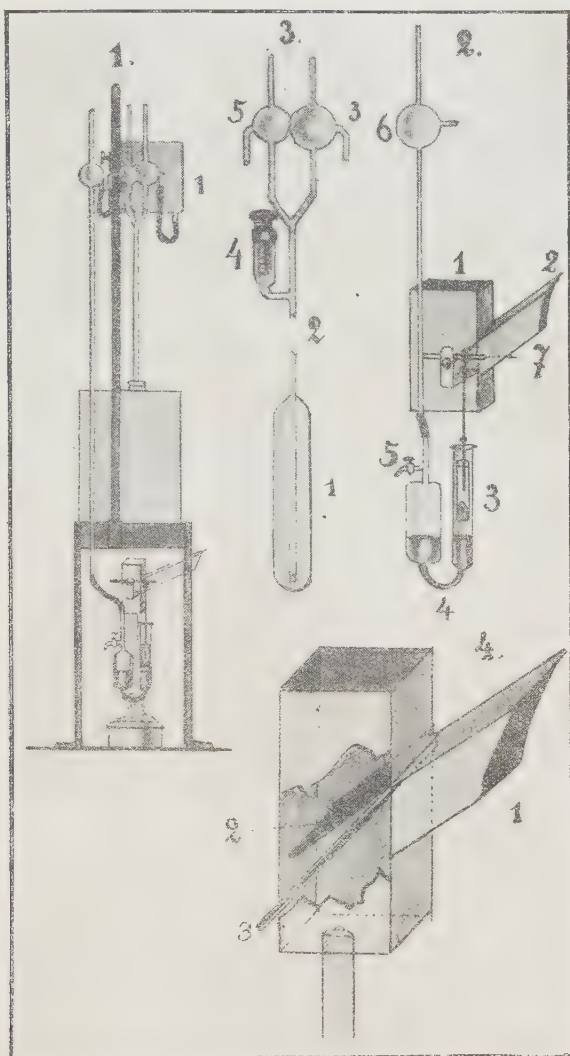
Une fois le réservoir du régulateur bien installé et fixé dans l'eau du thermostat, on n'a plus qu'à réunir la boule de droite, 3 (fig. 3.), au niveau d'eau 1 (fig. 1.) et l'autre boule au tube à boule 5-6 de la figure 2. Une fois cette réunion établie, l'eau du niveau d'eau pénétrera par la boule droite du réservoir (fig. 1) à la bifurcation, traversera celle-ci (si le passage est libre de mercure), passera par la boule gauche, entrera dans la boule du tube 5-6 et tombera jusque sur le mercure du tube en V. L'eau finira par monter jusqu'à la hauteur du niveau d'eau, c'est-à-dire jusqu'à 4 ou 5 centimètres au-dessus de la boule, ce qui donne une colonne d'eau d'environ 130 centimètres. La pression de cette masse d'eau sur le mercure sera assez grande pour faire monter le mercure dans le tube 3 de la figure 2., jusqu'à 7 à 8 centimètres. Elle ouvrira donc la soupape dans la cheminée et laissera passer l'air chaud de la lampe vers le fond du thermostat.

Le chlorure de méthylène est très sensible à la moindre élévation de température, chaque degré fait monter le mercure du réservoir à peu près de 20 millimètres; donc, aussitôt que l'accès de la chaleur vers le thermostat sera libre, le mercure du régulateur montera rapidement, fermera l'embouchure de la bifurcation et interceptera le courant d'eau circulant dans les tuyaux. Dès que cela se produira, toute l'eau qui se trouvait dans le tube à boule s'écoulera au dehors par le petit tuyau à robinet 5 (fig. 2.), la pression sur le mercure cessera et la soupape reviendra à sa place primitive, c'est-à-dire qu'elle fermera l'accès de la chaleur au thermostat, et ainsi de suite.

L'écoulement du robinet (fig. 2.) se faisant par gouttes ou par un jet d'eau très mince, il en résulte que l'eau dans le tube à boule ne s'écoule pas d'un trait mais peut parfaitement se tenir tout le temps de l'écoulement au même niveau élevé. Mais dès que le courant d'eau est intercepté dans la bifurcation, l'eau du tube à boule s'en va assez vite et ramène ainsi la soupape à son point de départ, c'est-à-dire qu'elle arrête le réchauffement du thermostat; l'air chaud s'en va dans la chambre par l'embranchement 1 de la figure 4. (ou 2 de la figure 2.) et le thermostat commence à se refroidir.



Ce jeu automatique de l'arrivée de l'eau et de l'ouverture et fermeture de la soupape se fait d'une manière tout à fait pré-



*Thermorégulateur.* — 1. Ensemble. 2. Appareil moteur de la soupape. Sous la pression de l'eau qui arrive par la boule 6, le mercure, chassé dans le tube 4, vient soulever le cylindre 3, qui fait tourner la tige 7. 3. Régulateur à chlorure de méthylène. Chassé par la dilatation du liquide contenu dans le réservoir 1, le mercure, montant par le tube en V, 2, vient obstruer le passage de l'eau entre les boules 3 et 5. 4. Détail de la cheminée. L'axe 3 est commandé par la tige 7 de la figure 2.

cise et sûre; il faut seulement de temps en temps prendre soin que le conduit du robinet 5 de la figure 2. ne s'obstrue pas. Le meilleur moyen c'est de mettre dans le niveau d'eau 1 (fig. 1.), sur le départ du tube qui conduit l'eau vers le régulateur, un petit morceau de tamis fin en laiton. Quant à la vitesse de l'écoulement d'eau du petit robinet en 5 (fig. 2.), elle sera bonne si les gouttes se suivent par  $1/2$  seconde quand la colonne d'eau au-dessus de lui est basse, et si les gouttes ne peuvent plus être comptées ou s'il se forme un mince filet d'eau quand la colonne d'eau atteint son maximum de hauteur.

Pour être sûr de prévenir des retards dans cet écoulement d'eau, on aura soin de nettoyer la petite ouverture au moyen d'un mince fil de métal quelconque. On le fera chaque matin en même temps que le nettoyage de la lampe et son remplissage de pétrole.

Il faudra se servir de grandes lampes qui peuvent brûler pendant deux jours de suite, mais il vaut mieux les nettoyer et les remplir chaque jour. On se servira de même d'un verre d'Iéna de 14-15 millimètres, qui a l'avantage de ne pas éclater. Pour la flamme, il ne faut pas la faire trop grande, autrement la soupape restera presque toujours fermée et l'eau dans le tube à boule ne montera presque jamais. Au contraire, si la flamme est prise trop basse, la soupape restera toujours ouverte et la colonne d'eau dans le tuyau ne descendra plus de sa plus grande hauteur. Le plus avantageux est de faire brûler la flamme un peu plus grande que ne l'exigent les 37 degrés du thermostat.

La dépense de pétrole dépend essentiellement de la grandeur de la flamme dans la lampe. En chiffre moyen la dépense annuelle serait de 114 à 180 kilogrammes (140 à 222 litres de pétrole), ce qui ferait moins de 35 à 55 francs par an. Ces chiffres pourraient se réduire sensiblement si l'on cherchait à diminuer la flamme autant que possible.

La consommation de l'eau n'occasionne aucun frais mais, dans les villes où l'eau est imposée (2 à 3 centimes l'hectolitre), cette dépense, en comptant 50 litres par jour, serait de 1 à 2 centimes, et la dépense annuelle, pour 188 hectolitres, serait de 3 fr. 40 à 6 fr. 20 par an.

Les frais d'exploitation, comme on le voit, ne sont pas grands. Ils sont beaucoup moindres qu'en employant le gaz ou l'électricité.

Enfin il ne faudra pas oublier de mettre un petit entonnoir sous le robinet 5 de la figure 2. et de réunir cet entonnoir au tuyau de descente pour les eaux sales. Cela peut se faire à l'aide d'un tube en caoutchouc, seulement il faudra que l'extrémité du caoutchouc se trouve 5 ou 6 centimètres plus bas que son entrée dans le tuyau et que cette entrée soit hermétiquement fermée autour du caoutchouc. Cette disposition garantit une bonne aspiration de l'intérieur de la chambre vers la gouttière.

# ÉTUDES SUR LA GANGRÈNE GAZEUSE

## LE BACILLE DE L'ŒDÈME GAZEUX MALIN

(PREMIER MÉMOIRE)

par M. E. SACQUÉPÉE,  
Médecin-major de 1<sup>re</sup> classe.

(Laboratoire de Bactériologie d'une Armée.)

La réapparition de la gangrène gazeuse constitue le trait le plus saillant dans l'histoire des plaies de guerre observées depuis le début des hostilités. Aussi était-il désirable de chercher à élucider les causes de cette complication si redoutable. Dès le début du fonctionnement du Laboratoire, M. le médecin inspecteur général, médecin de l'Armée, m'incitait à entreprendre des recherches sur le sujet.

Des circonstances favorables ont permis de conduire ces études avec fruit. Dès le premier cas observé, une technique appropriée permettait d'isoler un bacille spécial, différent des agents pathogènes déjà connus.

Ultérieurement, une série de résultats analogues confirmaient cette constatation initiale : il est tout à fait certain que le bacille trouvé au début joue dans la gangrène gazeuse un rôle de première importance.

A l'affection que détermine ce bacille chez l'homme, j'ai donné le nom d'*Œdème gazeux malin*; c'est l'agent pathogène spécifique de l'œdème gazeux malin qui est décrit dans ce mémoire.

La première communication sur le sujet est une note verbale sommaire, à la Société de Chirurgie, en date du 19 mai.

Le même jour, un mémoire sur l'*Œdème gazeux malin et son agent pathogène*, était remis à la Société de Chirurgie; ce mémoire était présenté en partie le 26 mai, par M. Quénu (1).

(1) V. *Presse médicale*, 27 mai 1915. — *Bull. et Mém. de la Société de Chirurgie*, t. XLI, 1915, p. 4132.



La note verbale et l'analyse du mémoire sont indépendantes l'une de l'autre.

Le 12 juin, une note à la Société de Biologie donnait du bacille de l'*Œdème gazeux malin* une description plus détaillée, mais toujours conforme à la description primitive (1).

Le mémoire actuel constitue le développement des notes antérieures.

En temps normal, j'aurais peut-être hésité à présenter dans les *Annales* un travail encore incomplet sur certains points; mais, dans les circonstances actuelles, il est utile de faire connaître tout ce qui est susceptible de contribuer à résoudre les problèmes créés ou ravivés par la guerre.

A cet égard, la gangrène gazeuse est au premier plan.

#### MORPHOLOGIE.

ASPECT MICROSCOPIQUE. — La forme du bacille sera étudiée d'une part dans les cultures, d'autre part dans les produits pathologiques.

*En cultures.* — Décrivons comme types les cultures jeunes, âgées de moins de vingt-quatre heures, en *bouillon Martin* (fig. 1, p. 78).

La longueur des éléments bacillaires est des plus variables; à côté de formes courtes, on peut trouver des formes longues et de véritables filaments. En moyenne, la longueur oscille de 3 à 10  $\mu$ ; analogue comme dimensions en longueur au vibron septique (2), le bacille *O. g. m.* est généralement un peu plus épais que ce dernier, mais ce caractère est inconstant.

Les extrémités sont ordinairement soit émoussées, soit franchement arrondies; toutefois, dans les chaînettes, les surfaces d'accolement peuvent se montrer droites ou presque droites.

Les formes bacillaires sont tantôt rectilignes, tantôt sinueuses, assez souvent même incurvées, et prenant la forme d'une canne, d'un *s* allongé, d'une virgule, etc.

Suivant les échantillons, la proportion relative des formes rectilignes et des formes sinueuses, de même que la proportion

(1) *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, t. LXXVIII, 1915, p. 316.

(2) Echantillon Va. de la collection de l'Institut Pasteur.

des formes bacillaires et des formes filamenteuses, sont très variables.

Dans la très grande majorité des cas, le bacille présente partout une longueur sensiblement uniforme. Rarement il est, à une extrémité, soit légèrement aminci en fuseau, soit au contraire élargi, l'ensemble prenant la forme d'une bouteille à col très allongé (fig. 2).

Le plus souvent isolés, souvent aussi réunis en diplo-bacilles, les bacilles présentent volontiers des dispositions moins simples : certains se mettent en chaînettes, rarement plus de

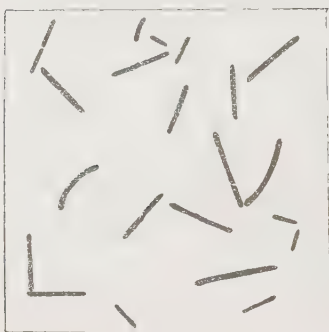


FIG. 1. — Bac. *O. g. m.*

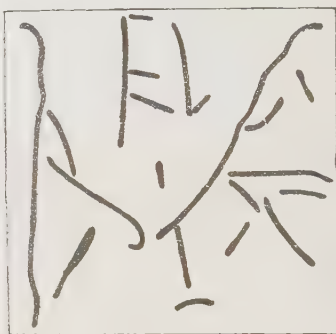


FIG. 2. — Bac. *O. g. m.*

Culture en bouillon Martin, 24 heures.

Culture en bouillon Martin, 24 heures.

5 à 15 éléments, égaux ou inégaux; d'autres se groupent en amas irréguliers et peu cohérents, chaque élément demeurant bien distinct; ailleurs, des bacilles isolés sont accolés à l'extrémité ou sur les côtés d'un bacille généralement plus long, dessinant les lettres L, F, W, Y, etc., comme si une souche commune avait donné naissance à des fructifications terminales ou latérales; mais les articles sont nettement séparés; il s'agit de fausses ramifications (fig. 3).

L'une ou l'autre de ces dispositions domine pour un échantillon. La majorité des souches présentent en nombre prépondérant des bacilles isolés ou des diplo-bacilles, droits ou incurvés, moyens ou longs, avec une proportion variable de filaments, de chaînettes, d'ébauches d'amas et de formes sinueuses. Je n'ai pas vu jusqu'ici de souches exclusivement

filamenteuses ou exclusivement en chaînettes, dans les conditions de temps et de milieu étudiées pour le moment.

Après coloration élective (thionine phéniquée, méthode régressive), certains bacilles sont homogènes, alors que d'autres sont plus irréguliers, le colorant restant fixé à des granulations disposées sur un fond plus clair.

Les aspects morphologiques qui viennent d'être décrits se rencontrent dès le début de la culture (généralement douze à



FIG. 3. — Bac. *O. g. m.*

Culture en bouillon Martin, 24 heures.

dix-huit heures après l'ensemencement); ils varient peu jusqu'à la fin du premier jour. Sur certaines souches, on peut cependant observer qu'au début de la culture il y a surtout des formes moyennes ou courtes, les filaments apparaissant quelques heures plus tard.

Dans la suite, après deux jours de culture, l'aspect s'est ordinairement un peu modifié; les filaments sont plus nombreux; déjà certains bacilles fixent mal les colorants.

Dès le troisième et surtout le quatrième jour on assiste à une véritable involution. Beaucoup des éléments ont perdu la propriété de fixer les colorants électifs, et se colorent comme le fond de la préparation. Parmi eux, certains ont conservé la forme primitive; d'autres paraissent plus larges, étalés, dessinant une sorte de gaine, tantôt vide, tantôt parsemée de quel-

ques points chromatiques, dont l'assemblage peut simuler une courte chaînette de streptocoque auréolé; il en est qui se fusionnent entre eux et peuvent dessiner une sorte de réseau. D'autres présentent des bosselures, d'autres encore s'effilent aux extrémités; des filaments sont tordus sur eux-mêmes. Mais, au milieu de ces formes multiples d'involution, il persiste un nombre appréciable de bacilles d'apparence normale, ayant conservé la forme et l'aptitude tinctoriale primitives.

Plus tard, le nombre des bacilles d'apparence normale diminue progressivement; mais ils semblent ne disparaître tout à fait que bien tardivement, car après trois et parfois six semaines, on retrouve de très rares exemplaires de bacilles bien colorables, au milieu d'une masse peu distincte de cadavres microbiens.

\* \* \*

L'évolution du bacille, telle que nous venons de la décrire, se retrouve sans modifications appréciables dans la plupart des milieux liquides artificiels : bouillon ordinaire, bouillon lactosé, bouillon mannité, etc.

Toutefois, dans certains milieux, on observe des modifications de détail. C'est ainsi que, dans les cultures en *bouillon glucosé* à 2 p. 100, surtout après quarante-huit heures, à côté des formes signalées dans le bouillon Martin, on rencontre souvent en grand nombre des éléments plus épais et plus courts, plus trapus, avec formation de chaînettes plus nombreuses et plus longues, occupant parfois tout le champ du microscope. En *bouillon maltosé*, l'aspect est analogue, mais les formes courbes ou sinueuses sont plus abondantes ou même très prédominantes (fig. 4). En bouillon glucosé comme en bouillon maltosé, l'involution, quoique précoce, est peu marquée au début, beaucoup de bacilles gardant pendant plusieurs jours (parfois huit jours) leur morphologie et leurs aptitudes tinctoriales. Il faut observer que le glucose et le maltose sont tous deux attaqués fortement, et il est vraisemblable que les particularités morphologiques en milieux maltosés ou glucosés sont la conséquence des modifications engendrées par la présence d'un sucre fermentescible.

En milieux albumineux, spécialement dans le sang, les éléments sont souvent trapus et présentent une tendance à se placer en chaînettes.

En gélose Veillon (cultures jeunes), les bacilles se montrent d'ordinaire moins longs, moins sinueux; la disposition en chaînettes est plus fréquente qu'en bouillon Martin.



Dans les produits pathologiques et dans les tissus, chez l'homme comme chez l'animal, le polymorphisme est moins prononcé que dans les cultures en milieux liquides. Les dimensions des bacilles sont généralement un peu moindres, les formes moyennes ou courtes prédominent de beaucoup.

Chez le cobaye, surtout au point d'inoculation, on observe parfois des éléments plus longs. Il en est de même sur le péritoine; mais je n'y ai jamais vu de véritables filaments. Ordinairement isolés ou en diplo-bacilles, les éléments se disposent plus rarement en courtes chaînettes, spécialement au point d'inoculation.

**COLORATION.** — Le bacille *O. g. m.* se colore facilement par les couleurs d'aniline.

*Il prend le Gram.*

Cette formule, nécessaire pour les classifications bactériologiques, demande quelques développements.

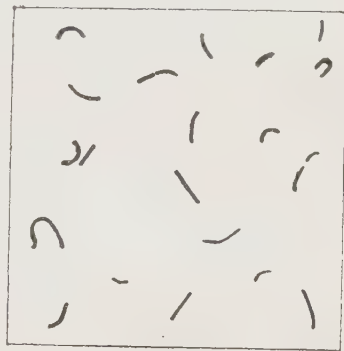


FIG. 4. — Bac. *O. g. m.*

Culture en bouillon maltosé,  
36 heures.

Comme la plupart des espèces gramophiles, le bacille *O. g. m.* prend d'autant mieux le Gram que les cultures sont plus jeunes. Mais ce principe est ici porté à l'extrême. D'autre part, même dans les cultures jeunes, les bacilles ne conservent le Gram qu'après action prolongée des réactifs.

S'adresse-t-on par exemple à des cultures de quinze heures en bouillon normal, ce qui marque habituellement le début apparent de la culture dans nos conditions d'opération, on obtient d'ordinaire les résultats suivants :

Après *traitement rapide* (1) par le Gram, beaucoup de bacilles ne gardent pas le violet (sont teintés en rouge);

Après *traitement prolongé* (2), la plupart des bacilles gardent le violet, mais quelques-uns ne l'ont pas fixé;

Après *traitement très prolongé* (3), tous les bacilles ont gardé le Gram.

(1) Gram rapide : violet phéniqué, 45 secondes; solution iodo-iodurée forte, 45 secondes; décoloration par l'alcool-acétone; recoloration du fond par la fuchsine phéniquée au centième, 20 secondes.

(2) Gram prolongé : violet phéniqué, 45 secondes; solution iodo-iodurée, 45 secondes; le reste comme ci-dessus.

(3) Gram très prolongé : violet phéniqué, 5 minutes; solution iodo-iodurée, 5 minutes; le reste comme ci-dessus.

Après vingt-quatre heures, dans les mêmes conditions d'opération, l'aptitude à prendre le Gram est déjà très sensiblement amoindrie pour un grand nombre de bacilles; elle est parfois complètement nulle. Plus tard, le nombre des éléments gramophiles devient insignifiant.

Dans les tissus, les bacilles se comportent pour la plupart comme les bacilles jeunes des cultures, mais leur aptitude à prendre le Gram est plus développée.

**CAPSULE.** — Autour du corps bacillaire se trouve un espace libre, une capsule.

Très net chez certains échantillons, moins perceptible chez d'autres, cet espace libre paraît faire défaut pour un petit nombre d'éléments. Il dessine régulièrement le contour du bacille, et englobe en un seul bloc les éléments des chaînettes. Sans s'imposer habituellement à l'œil comme la capsule du pneumocoque, cet espace libre est parfois assez développé et sa largeur atteint celle du bacille; le plus souvent, ses dimensions sont moindres.

Il s'est montré plus net dans les milieux albumineux (sang surtout), mais avec un peu d'attention on peut le retrouver dans presque tous les milieux, y compris les milieux habituels, de même que dans l'organisme (Planche I, fig. 4).

Cet espace libre ne se colore que difficilement.

**MOBILITÉ.** — Dans les conditions habituelles d'examen, entre lame et lamelle, les bacilles provenant de cultures en milieu liquide (y compris les cultures en milieux albumineux) ne se sont jamais montrés nettement mobiles. Certains présentent des oscillations sur place, d'autres peuvent présenter des déplacements limités et très fugaces, d'autres sont tout à fait immobiles.

En partant des tissus organiques, il n'en est pas toujours ainsi : dans les mêmes conditions d'examen, certains échantillons sont nettement mobiles; la plupart ne présentent qu'une mobilité légère, parfois nulle. Mais la mobilité, quand elle existe, ne peut être appréciée que dans des circonstances particulièrement favorables : il faut s'adresser à un animal mort depuis peu de temps, le cadavre n'étant pas encore refroidi; il faut en outre opérer très rapidement, de sorte que l'examen puisse être pratiqué en quelques secondes, en ayant soin de chauffer légèrement lame et lamelle. Avec toutes ces précau-

tions, on peut constater que certaines races se déplacent vivement dans le champ du microscope, mais leur mobilité est éphémère; très rapidement, en quelques secondes, l'amplitude des mouvements s'atténue, et bientôt il ne reste plus qu'une sorte de mouvement brownien, qui disparaît lui-même à son tour.

D'autres races sont moins mobiles; même dans les meilleures conditions d'examen, telles qu'elles sont précisées ci-dessus, on n'observe pas autre chose que des oscillations de faible amplitude et dans un champ limité, mobilité de chien à l'attache; ou bien des mouvements extrêmement lents, perceptibles seulement lorsqu'on repère les éléments microbiens par rapport à un point fixe de la préparation, comme les globules rouges ou les globules blancs. Il est enfin des échantillons qui ne présentent pas de mobilité appréciable.

Le caractère de mobilité ou d'immobilité, si important pour la plupart des bactéries, ne peut donc être exprimé dans le cas particulier en une formule simple. Il est probable qu'avec des moyens d'observation plus perfectionnés, on pourrait parvenir à mettre en évidence la mobilité dans tous les cas. Au point de vue doctrinal, et d'après les bases habituelles de classification, la question peut être posée de savoir s'il est possible de ranger dans une même espèce des microbes mobiles et des microbes immobiles; aucune raison sérieuse ne m'engage à opérer une dissociation basée sur la mobilité seule, en présence d'une série de microbes si bien liés par ailleurs au nom de leur origine, de leurs caractères généraux et de leurs propriétés pathogènes. Il faut ajouter que nous nous trouvons ici en présence d'une bactérie bien spéciale, dont les exemples sont rares: elle est à la fois capsulée et, comme nous le verrons, ciliée. Les bactéries ciliées sont généralement mobiles, mais inversement les bactéries capsulées sont généralement immobiles. Peut-être la mobilité ou l'immobilité sont-elles fonctions du développement relatif de la capsule et des cils? Question morphologique non résolue jusqu'ici.

**CILS.** — Les procédés spéciaux permettent de mettre en évidence des cils vibratiles.

Sur les bacilles très jeunes provenant de milieux liquides, les cils se montrent en nombre variable; de quatre à huit, en moyenne, leur nombre est parfois moindre, et inversement peut s'élever à vingt ou même davantage. Il est bien évident que le nombre des cils est susceptible de varier un peu suivant l'âge des microbes, la composition des milieux, le dispositif de culture. L'espèce est nettement et richement ciliée, c'est tout

ce qu'il y a lieu de retenir; qu'elle soit un peu plus ou un peu moins chevelue, c'est assez naturel, et il en est de même pour les meilleures espèces microbiennes; mais il serait inadmissible de se baser sur le nombre de cils pour établir entre les divers échantillons une séparation valable.

Les cils sont péritriches; presque toujours longs ou très longs, atteignant facilement deux et trois fois la longueur du corps bacillaire. Généralement simples, ils se montrent parfois anastomosés entre eux, ou bifurqués, surtout à l'extrémité libre. Ils dessinent des spires larges et irrégulières.

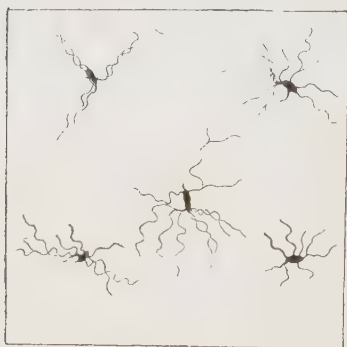


FIG. 5. — Bac. *O. g. m.*

Cils. Culture 48 heures,  
en bouillon Martin;  
coloration par le Nicolle-Morax.

Quand on réussit à mettre en évidence à la fois la capsule et les cils, on peut constater que certains cils prennent naissance sur la capsule, alors que d'autres vont plus loin et atteignent le corps bacillaire (Planche I, fig. 2). Il est bien vraisemblable que ces derniers passent en réalité en avant ou en arrière du bacille (par rapport à l'œil de l'observateur) et qu'eux aussi vont s'insérer sur la capsule. Aussi doit-on admettre que tous les cils s'insèrent non sur le corps microbien lui-même, mais sur la capsule qui l'entoure.

**SPORES.** — En raison même des conditions étiologiques dans lesquelles se développe la gangrène gazeuse, il est certain que les agents susceptibles de la provoquer sont des germes doués d'une très grande résistance, et par conséquent sporulés, puisque la spore constitue la forme de résistance habituelle des bactéries.

Le bacille *O. g. m.* est en effet sporulé.

Les spores (Planche I, fig. 3) se rencontrent souvent dans les tissus, chez l'homme malade, comme chez l'animal inoculé. Elles se trouvent de préférence au niveau des lésions les plus accentuées, c'est-à-dire dans les points où la végétation du germe est relativement la plus ancienne.

Après inoculation du bacille au cobaye ou au lapin dans les masses musculaires, on constate souvent l'existence de bacilles sporulés au point d'inoculation, et parfois aussi à quelque dis-



tance ; dans le tissu cellulaire des flancs, par exemple, lorsque l'inoculation a été faite dans la cuisse.

Chez l'homme, les bacilles sporulés se trouvent surtout dans le tissu musculaire très altéré, gangrené ou en voie de destruction.

*In vitro*, les spores se forment dans les différents milieux liquides utilisés jusqu'ici, mais avec une rapidité et une abondance très variables. En bouillon ordinaire, en bouillon Martin, elles apparaissent en vingt-quatre ou quarante-huit heures et leur nombre augmente dans la suite ; au quatrième jour, on peut ordinairement les trouver sans peine ; dans les cultures âgées, elles sont abondantes, sans atteindre par exemple la prolifération luxuriante du *B. Sporogenes*. Comme on peut s'y attendre, il y a à cet égard des différences individuelles assez marquées ; la plupart des souches donnent peu de spores, d'autres en donnent davantage.

En bouillon additionné de 2 p. 100 de glucose, les spores demeurent rares ; après deux ou trois jours de culture, il faut examiner assez longuement pour en découvrir quelques exemplaires. La présence du glucose, au moins en quantité notable, semble donc mettre obstacle à la sporulation.

En bouillon lactosé, de même que dans le lait, la sporulation est généralement d'intensité moyenne, intermédiaire entre celle qu'on observe dans le bouillon Martin et dans le bouillon glucosé.

La sporulation, assez limitée dans les milieux précédents, peut être activée dans les conditions suivantes : on met à l'étuve, dans le bouillon ordinaire, ou l'eau physiologique, un cube de tissu musculaire (ou, en cas de généralisation, la rate entière) d'un animal mort d'œdème gazeux malin. Après vingt-quatre ou quarante-huit heures, les spores sont habituellement nombreuses, et le deviennent davantage encore dans la suite. On obtient le même résultat en portant à l'étuve, en bouillon ordinaire, un fragment de tissu musculaire provenant de l'œdème gazeux malin de l'homme.

Les spores, très visibles sans coloration sous forme d'espaces clairs, se colorent par les procédés spéciaux classiques.

Quel que soit le milieu où elles se sont formées, les spores sont *généralement oblongues*, plus rarement *ovales*.

Dans les tissus organiques, la plupart des spores se montrent incluses dans les corps bacillaires. Dans les cultures *in vitro*, elles se libèrent relativement tôt ; en surveillant journellement les cultures, on arrive toutefois à trouver des bacilles sporulés, surtout lorsqu'on s'adresse aux milieux où la sporulation est la plus active (culture en tissus ou organes).

Vues dans le corps bacillaire, les spores sont ordinairement *subterminales*, une sorte de capuchon microbien, d'épaisseur variable, débordant à la périphérie. Plus rarement elles sont franchement terminales ou nettement médianes. Dans la règle, chaque bacille ne porte qu'une seule spore ; exceptionnellement,

il en porte deux, une à chaque extrémité. Elles sont généralement disposées suivant l'axe du bacille, parfois inclinées par rapport à l'axe. Dans leurs premiers stades de développement, les spores ne forment pas de saillie appréciable sur les bords du bacille. Mais à mesure qu'elles se développent, elles forment une protubérance plus accentuée. L'ensemble du bacille avec la spore affecte alors la forme d'un battant de cloche, à battant plus ou moins gros, ou même la forme en raquette.

Après coloration, les spores teintes en rouge se montrent, au début, entourées d'un espace clair, qui n'a pris ni le colorant spécifique, ni la couleur du fond. Il s'agit probablement d'une partie de spore encore incomplètement formée.

Une fois libre, la spore se montre ordinairement entourée d'une cuticule, peu épaisse après coloration, et assez souvent un peu effilochée.

#### CULTURES.

Le bacille *O. g. m.* se développe assez facilement dans les milieux de culture.

Les conditions générales de culture sont dominées par cette définition : le bacille *O. g. m.* est un *anaérobie strict*.

C'est dire que seuls les dispositifs spéciaux aux cultures anaérobies pourront être utilisés pour les cultures.

En ce qui concerne le degré d'anaérobiose, l'aptitude végétative du bacille *O. g. m.* est renfermée dans les limites approximatives depuis longtemps connues pour le vibron septique, le bacille tétanique, etc.; à défaut d'anaérobiose absolue, pratiquement irréalisable, l'anaérobiose relative des dispositifs habituels est suffisante.

Dans cet ordre d'idées, et vu les conditions d'installation du laboratoire, les dispositifs suivants ont été ordinairement utilisés, pour les milieux liquides : cultures en tubes hauts, la couche liquide atteignant au moins 12 centimètres de hauteur ; on met au fond du tube 2 cubes de blanc d'œuf cuit. Sitôt avant l'emploi, faire bouillir 20 minutes (ou passer à l'autoclave), refroidir très vite. Immédiatement avant ou après l'ensemencement, additionner d'un peu de sulfure de calcium stérilisé.

Plus rarement, les milieux liquides ont été soumis au vide, suivant les procédés habituels.

En ce qui concerne les conditions thermiques, voici quelques indications : à 15-17 degrés, de même à 20 degrés, le développement a été minime et lent. A 37 degrés, développement très satisfaisant.

Les cultures se font bien en milieux neutres, légèrement acides ou légèrement alcalins.

MILIEUX LIQUIDES ARTIFICIELS. — *En bouillon Martin*, il se produit d'abord une sorte de nuage autour des cubes d'albumine du fond, puis la masse du liquide se trouble d'une manière homogène et, pendant quelque temps, donne par agitation des ondes moirées, comme une culture de bacille typhique.

Rapidement, l'aspect change : la culture se contracte en grumeaux ou flocons, nageant dans un liquide plus clair; ces grumeaux ou flocons se maintiennent à leur tour un temps variable, grossissant plus ou moins, et finalement se précipitent au fond du tube; on trouve alors une grande colonne de liquide clair, surmontant un dépôt blanchâtre peu épais qui se tasse dans la suite.

Toute cette évolution est rapide; elle se fait d'ordinaire en 36 à 48 heures : Le trouble homogène apparaît entre 12 et 20 heures; quelques heures après, l'état floconneux s'installe; en 36 à 48 heures, le liquide est éclairci en même temps que le dépôt est formé.

On constate en même temps un léger dégagement gazeux.

La description ci-dessus répond à ce qu'on voit habituellement. Il y a quelques variantes de détail : le trouble homogène du début peut être extrêmement fugace; d'autres échantillons ne précipitent pas complètement, il persiste soit un louche extrêmement minime uniformément répandu dans la masse, soit quelques masses nuageuses qui nagent à des hauteurs diverses dans la couche liquide.

L'intensité de la culture est un peu variable d'un échantillon à l'autre.

Dans l'ensemble, l'évolution générale de la culture est bien spéciale et constitue un bon renseignement d'orientation : apparition d'un trouble qui, habituellement homogène au début, devient vite floconneux; éclaircissement rapide par précipitation, en constituent les deux caractères essentiels.

Dans les autres milieux liquides artificiels d'usage courant, l'évolution de la culture ressemble beaucoup à celle que nous venons de décrire; certaines particularités doivent toutefois être signalées.

*En bouillon ordinaire*, les cultures ont sensiblement le même aspect et la même intensité qu'en bouillon Martin.

L'addition de sucres aux milieux agit de manière différente,

suivant que le sucre est attaqué ou ne l'est pas; le bouillon Martin, additionné de 2 p. 100 de *glucose*, de *lévulose*, de *mal-tose*, donne une culture luxuriante, plus abondante que les milieux précédents; le liquide demeure trouble plus longtemps, pendant plusieurs jours pour certains échantillons en milieux glucosés et mallosés. Des flocons apparaissent dans la masse trouble et se sédimentent peu à peu.

Inversement, en bouillon Martin additionné de mannite, saccharose, dulcité, glycérine, le bacille se comporte comme en bouillon simple.

*Lait.* — Dans le lait ensemencé tel que, même en tubes profonds et après ébullition préalable, les cultures se font de manière très inégale, ordinairement très mal.

On obtient des résultats moins irréguliers en ajoutant en outre du sulfure de calcium au moment de l'ensemencement.

Dans ces conditions, le lait est coagulé en quelques jours, trois à huit jours dans la très grande majorité des cas, parfois un peu plus tôt ou un peu plus tard. Le caillot et le sérum sont nettement séparés. D'abord limitée, la coagulation s'étend peu à peu à toute la masse ou au moins à la plus grande partie. Ordinairement le caillot forme un bloc compact; plus rarement il est moins régulier, creusé de logettes, en éponge, ou effrité en grumeaux. La réaction devient faiblement acide (au tournesol). Le dégagement gazeux est faible ou nul.

A la longue, le sérum peut prendre une teinte légèrement jaunâtre ou ambrée.

Après plusieurs semaines, rarement plus tôt, le caillot devient souvent un peu plus transparent (le fait est inconstant); les surfaces, d'abord nettes, se creusent peu à peu de rainures, d'échancrures; le bloc de caséine se disloque en gros fragments qui se détachent de la masse, ou bien tout le caillot se désagrège en petits grumeaux. Il y a donc pour la plupart des échantillons attaque très lente, mais réelle de la caséine.

*Cube d'albumine dans l'eau physiologique.* — L'ensemencement en eau physiologique, avec cube d'albumine, ne donne pas de développement appréciable.

*Sérum liquide.* — Dans le vide, culture légère, sous forme de flocons nuageux qui se précipitent rapidement au fond du tube; quelques bulles gazeuses.



*Ascite* (en tube profond). — Culture minime : trouble uniforme à peine perceptible, quelques bulles gazeuses ; précipitation rapide.

**MILIEUX SOLIDES : COLONIES ISOLÉES EN GÉLOSE GLUCOSÉE NITRATÉE.** — Il est nécessaire de préciser les caractères de cultures en milieu de Veillon (1), car c'est de là que doivent partir les premiers isolements.

Beaucoup d'échantillons se montrant gazogènes, il importe de s'adresser exclusivement aux tubes renfermant de rares colonies bien séparées.

Après repiquages multiples en milieux artificiels, il arrive fréquemment que les caractères de culture en milieu de Veillon se modifient plus ou moins ; manifestation d'accoutumance ou de dégénérescence, plus marquée quand on s'adresse aux formes bacillaires, cette modification est moindre, sans être nulle, quand on ensemence des spores, obtenues par chauffage (V. p. 94) des cultures âgées primitives, ou des produits pathologiques. Aussi y a-t-il lieu de décrire la forme d'évolution normale, et de faire connaître ensuite quelques modifications spéciales aux cultures accoutumées.

*Forme normale.* — L'évolution normale peut être subdivisée en trois périodes : tout d'abord les colonies se développent, période d'efflorescence ; une fois au plein de leur développement, elles se modifient, continuant à vivre ou à s'accroître sur certains points, alors qu'elles s'estompent sur d'autres points ; enfin elles dégènèrent en totalité : période de déclin.

Il faut être prévenu que la germination se fait souvent par bouffées : certaines colonies commencent à apparaître, alors que d'autres sont déjà en pleine évolution. Les colonies apparues les premières seront considérées comme normales. Au contraire, les colonies apparues avec un retard notable présentent très souvent une évolution atypique ou un développement incomplet.

*Phase d'efflorescence.* — Après 24 heures à 37 degrés, les colonies normales sont bien visibles à l'œil nu ; les détails

(1) Bouillon gélosé glucosé, nitraté à 0,8 ou 1 p. 100 de gélose et 1,5 p. 100 de glucose. Ces proportions doivent être respectées, sans quoi les caractères des colonies peuvent être profondément modifiés.

seront étudiés à la loupe, par transparence, avec un très bon éclairage. Elles se composent d'un centre opaque, jaune brunâtre, entouré d'une auréole plus claire, paraissant un peu argentée par transparence, à bords irréguliers, tantôt crénelés, tantôt simplement festonnés, plus rarement hérissés de courts filaments (planche I, fig. 4, A).

Après 48 heures, le volume est à peu près double, environ 6 à 12 dixièmes de millimètre. La texture générale comporte encore un noyau avec une auréole, de mêmes nuances que précédemment. Généralement opaque, très rarement un peu plus clair en quelque point, le noyau forme la plus grande partie de la masse. L'auréole, ordinairement très distincte, est parfois limitée à un simple liséré périphérique. A la loupe, elle se

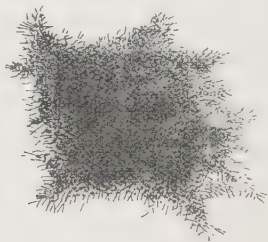


FIG. 6. — Bac. *O. g. m.*

Colonie âgée de 36 heures en milieu de Veillon.  
Grossissement : 30 diamètres.

montre plus ou moins irrégulière, à bords dentelés, crénelés ou festonnés. Dans l'ensemble, les colonies affectent des formes variées, cuboïdes, sphéroïdes, etc. Tant pour la forme générale que pour les détails de structure, il y a des différences appréciables d'une colonie à l'autre.

Au microscope : masse centrale opaque, indistincte, entourée de filaments périphériques en peloton, qui se perdent dans la masse.

A ce moment, la colonie est à son plein développement. Elle s'y maintient plus ou moins ; en général, plus longtemps lorsqu'on s'adresse aux spores des premières cultures. Au contraire, les bacilles issus des cultures ultérieures, même sporulées, évoluent rapidement vers la phase suivante : phase de transition.

*Phase de transition.* — Au cours de cette dernière, les colonies augmentent ordinairement de volume, les dimensions peuvent atteindre 12 à 18

dixièmes de millimètre. Il semble se produire une sorte d'étalement, comme si les bacilles cherchaient au dehors un milieu neuf; la croissance, régulière jusqu'alors, et généralisée à toute la colonie, semble désormais se localiser à certaines parties, centres opaques ou filaments, alors que le reste de la colonie commence à s'effacer.

Les modifications apparentes peuvent se ramener à trois modalités : condensation; dislocation; expansions filamenteuses.

*Condensation* : La masse, qui formait bloc jusqu'ici, se creuse de crevasses plus ou moins étendues et profondes, qui lui donnent un aspect chagriné ou un aspect de chaîne de montagnes.

Ainsi se trouvent peu à peu dessinés des centres plus opaques, séparés par des intervalles plus clairs formant réseau (planche I, fig. 4, B).

Les *centres opaques* sont le plus souvent distribués sur toute la largeur; avec leurs lignes plus claires de séparation, ils donnent à l'ensemble un aspect vaguement mûriforme (sphérules accolées) ou tigré, les masses périphériques formant hernie sous l'auréole. — Plus rarement les taches sombres se disposent exclusivement à la périphérie, en forme d'anneau ou de fer à cheval. — Entre les taches, le réseau devient à la fois plus clair et plus large, rongé de plus en plus les taches sombres; finalement, il ne reste qu'une plage peu teintée, parcourue par de gros filaments réticulés de plus en plus rares, et semée de quelques points plus foncés.

La *dislocation* est un processus analogue : les fissures séparent de gros fragments, et la colonie se disloque en plusieurs blocs, séparés à leur extrémité libre mais demeurant attachés par leur base, comme les pétales d'une fleur; ou bien l'écartement est moindre, les fragments ne sont séparés qu'à leur extrémité libre, chacun formant cap ou doigt de gant (planche I, fig. 4, C).

*Expansions filamenteuses* : Au pourtour de l'auréole, il apparaît de courts filaments disposés sur une grande partie du contour. Il se forme ensuite des houppes de filaments blanchâtres, beaucoup plus longs, saillants au dehors; ces filaments peuvent gagner toute la périphérie.

Suivant les colonies, l'une ou l'autre de ces modifications préexiste ou prédomine.

La dislocation complète, de même que les grosses expansions filamenteuses, sont inconstantes; en opérant dans les conditions indiquées ci-dessus, c'est l'aspect mûriforme, avec prolongements très courts à peine visibles, qui est le plus habituel.

Ultérieurement, *phase de déclin*, les colonies se résorbent peu à peu, il ne reste plus que des plages peu teintées, parcourues de points granuleux disséminés, ou de filaments dissociés, ressemblant aux nervures d'une feuille.

Cet aspect est acquis parfois en moins d'une semaine, plus ordinairement après 10 à 20 jours (à condition que les colonies soient bien séparées) ou même plus tard.

*Formes d'accoutumance ou de dégénérescence.* — Les bacilles accoutumés aux milieux artificiels sont susceptibles d'évoluer d'une manière sensiblement différente. Parmi les souches entretenues en milieux artificiels, certaines conservent jusqu'ici leurs caractères primitifs, alors que la plupart au contraire se

modifient sensiblement en ce qui concerne leur mode de développement en milieu de Veillon. Ces modifications sont tantôt limitées à quelques colonies, tantôt généralisées.

Les colonies ainsi modifiées évoluent à leur tour suivant un type qui n'a rien d'uniforme. Le plus fréquent est le suivant : Au début, 24 à 48 heures, la colonie a comme ci-dessus un noyau central et une auréole, mais l'auréole est très développée, et donne naissance à des filaments périphériques très visibles et nombreux (planche I, fig. 4, D); l'ensemble prend une teinte d'un blanchâtre presque neigeux (1). Au microscope, la structure filamenteuse est perceptible dans la plus grande partie de la masse.

Dans la suite, après l'accroissement habituel, certaines peuvent évoluer très vite, présentant dès le 2<sup>e</sup> jour ou l'aspect mûriforme, ou des plages décolorées; d'autres donnent naissance rapidement à des touffes de filaments. Ces aspects ne nous sont pas inconnus; ils existent aussi dans les formes types, mais n'y apparaissent que plus tardivement.

*Gélose de Veillon en piqûre.* — En 24 heures, tige très visible au long de la piqûre, débutant à 12 ou 15 millimètres de la surface; elle comporte une partie centrale jaune brunâtre, entourée d'une sorte de gaine moins colorée, d'un blanc un peu argenté, à bords plus ou moins irréguliers. En 48 heures, la tige a augmenté de volume; sur les bords, la gaine se montre plus nettement irrégulière, dessinant des festons, ou des encoches; elle se développe suivant deux ou trois plans, formant une sorte de voile dans la gélose. Il apparaît parfois à la périphérie, du 3<sup>e</sup> au 8<sup>e</sup> jour, soit des filaments nettement distincts, soit des expansions plus grossières. Souvent, il se produit une ou quelques bulles gazeuses.

*Gélatine.* — En gélatine glucosée (gélatine 10 p. 100; glucose 1,5 p. 100), aux environs de 15 à 17 degrés, culture lente.

Les colonies apparaissent en 4 à 8 jours, d'abord très discrètes, à peine visibles, n'atteignant leur plein développement qu'après 10 à 20 jours.

Au début, ce sont des masses arrondies ou ovoïdes, blan-

(1) En ce qui concerne leur aspect, ces colonies rappellent celles que donnent en 24 heures certaines colonies du *Bacillus sporogenes* (*sporog. A* de la collection de l'Institut Pasteur),



châtres par réflexion; à la loupe, et par transparence, tantôt l'aspect est uniforme, tantôt on constate un centre plus pâle et une auréole plus claire, dont le bord peut être lisse, crénelé ou dentelé. A l'examen microscopique au début : masse centrale opaque, avec filaments périphériques, soit séparés en touffes distinctes, soit enchevêtrés et comme enroulés autour du noyau. En se développant, ces colonies atteignent un millimètre environ. Secondairement, il apparaît fréquemment à la périphérie des expansions filamenteuses, ordinairement bien visibles mais rares et courtes, parfois très étendues, ou même anastomosées avec celles d'autres colonies.

Certaines colonies sont comme floconneuses, formées de gros filaments enchevêtrés, qui ne se séparent qu'à la périphérie.

Ramollissement ou liquéfaction tardifs (après 4 semaines).

*Pomme de terre.* — Après ensemencement en surface, dans le vide, il apparaît en quelques jours un enduit luisant, glacé, ressemblant beaucoup à la culture « en trainée de limace » du bacille typhique. L'examen microscopique permet de s'assurer que le bacille s'est développé, mais la prolifération est faible. L'eau de condensation se trouble un peu.

#### PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

**ODEUR.** — Tous les médecins savent que l'odeur est un des symptômes cardinaux de la gangrène gazeuse humaine : odeur spéciale, *sui generis*, impossible à définir exactement, à la fois putride, cadavéreuse, fade, nauséuse. Parmi d'autres propriétés, tout agent pathogène de la gangrène gazeuse doit être capable de reproduire une odeur équivalente. On l'obtient difficilement en cultures. En milieux additionnés de sucres fermentescibles, l'odeur est surtout celle des acides volatils, dus à la fermentation, odeur aigrette. Les cultures en bouillons non additionnés de sucres fermentescibles dégagent une odeur différente, légèrement putride et un peu fade, cadavéreuse. Les cultures en tissu musculaire exhalent la même odeur, souvent plus forte.

L'expérimentation reproduit mieux ce grand symptôme : pour obtenir l'odeur très franche, très nette de gangrène gazeuse, il suffit de provoquer chez l'animal une lésion muscu-

laire considérable. On y parvient en injectant chez le lapin, en plein muscle, des microbes débarrassés de toxine suivant la technique indiquée plus loin. A l'ouverture des lésions, l'odeur de gangrène gazeuse est frappante.

**VITALITÉ.** — Le bacille *O. g. m.* est très résistant, cette résistance étant le fait des spores. Au bout de plus de treize mois, des souches, conservées à la température ambiante après quelques jours d'étuve, sont toujours vivantes.

A l'égard de la chaleur, les spores possèdent une grande résistance, mais très inégale d'un individu à l'autre pour une même émulsion; c'est ainsi, par exemple, que diverses parties d'une même émulsion, après chauffage pendant un temps variable à 100 degrés, ont donné respectivement, par centimètre cube :

Après 30 secondes . . . . .	216.000	Après 20 minutes. . . . .	660
Après 5 minutes. . . . .	15.000	Après 30 minutes. . . . .	18
Après 10 minutes. . . . .	6.000	Après 45 minutes . . . . .	4

Au bout d'une heure, toutes les spores ont été détruites.

En réalité, la grosse majorité des spores succombent à l'ébullition, si peu que le chauffage se prolonge; de rares unités résistent jusqu'à 45 minutes.

A des températures inférieures, la résistance est naturellement plus prolongée. Un chauffage à 90 degrés pendant 5 minutes, ou à 80 degrés pendant 45 minutes, a généralement donné des résultats analogues — numériquement — à ceux d'une ébullition limitée à 1/2 ou 1 minute.

Les cultures non sporulées sont beaucoup moins résistantes; elles ont été stérilisées par chauffage à 75 degrés pendant 30 minutes.

**FERMENTATION DES SUCRES.** — Pour étudier l'action fermentative d'un germe sur les sucres proprement dits et sur les alcools polyatomiques, ordinairement rangés dans la catégorie des sucres, il est nécessaire de partir d'un milieu ne renfermant pas trace de sucre fermentescible. Les milieux choisis dans ce but ont été : 1° le bouillon Martin, privé de substances fermentescibles par le mode de préparation classique; 2° un mélange

à parties égales de peptone Martin et de blanc d'œuf alcalinisé (1). Ce dernier milieu, employé tel quel, ne se prête pas à la culture du bacille *O. g. m.* Le développement a lieu lorsqu'on ajoute un sucre susceptible d'être attaqué avec quelque énergie.

En peptone Martin — blanc d'œuf additionné de glucose, maltose, lévulose, le bacille se développe largement. La culture s'accompagne d'un dégagement gazeux très net; le tube intérieur formant chambre à gaz est ordinairement rempli de gaz avant 24 heures pour le glucose, avant 48 heures pour le maltose. En même temps, il se forme une sorte de coagulum, dont une partie soulevée par les gaz peut former bouchon à la surface alors que le reste se précipite au fond. En milieu lévulosé, le dégagement gazeux est moindre, mais très appréciable. La réaction au tournesol, après 48 heures, est franchement acide (rouge franc) pour le glucose et le maltose, légèrement acide (rouge vineux) pour le lévulose.

En bouillon Martin (désucré), les constatations parlent dans le même sens : les tubes ensemencés après addition de glucose, maltose ou lévulose, donnent, avec une abondante production de gaz, une réaction acide de mêmes nuances qu'en peptone Martin — blanc d'œuf alcalin.

En présence du galactose, et après trois à six jours d'étuve, la réaction est également acide, mais à un degré moindre que pour les sucres précédents. Avec le lactose, la manite et la dulcite, la réaction acide est à peine perceptible. Quant à la glycérine et au saccharose, leur présence ne paraît pas amener de modifications par rapport aux tubes témoins (ensemencés, mais non sucrés).

Il résulte de là que le bacille *O. g. m.* attaque très énergiquement le glucose et le maltose, encore énergiquement le

(1) *Formule indiquée antérieurement* : Recueillir un blanc d'œuf, ajouter peu à peu et en agitant constamment trois fois son volume d'eau distillée. Alcaliniser en ajoutant, pour cent centimètres cubes de la dilution, un demi-centimètre cube d'une solution de soude au dixième. Stériliser à l'autoclave (Sacquépée et Delater).

*Dispositif* : On dissout dans la peptone Martin 2 p. 100 de gélatine (en feuilles); on alcalinise, précipite à l'autoclave et filtre comme d'ordinaire; la peptone gélatinée est ensuite répartie en petits tubes (10 X 8) qu'on remplit à pleins bords, débordants; laisser refroidir. D'autre part, on prépare le milieu sucré voulu : peptone Martin et blanc d'œuf alcalin, parties égales; sucre, 2 p. 100. Le milieu sucré est réparti en grands tubes, 20 ou 22 millimètres, avec cubes de blanc d'œuf comme d'ordinaire. On dispose alors le petit tube de peptone gélatinée, ouverture en bas, dans les grands tubes de milieu sucré. Stériliser. Ensemencer comme d'ordinaire (tubes à peine refroidis; addition de sulfure de calcium). Après refroidissement, on obtient un milieu liquide, faiblement gélatiné, sucré à 1,5 p. 100 environ. Ce procédé, modification d'un procédé antérieurement décrit par un auteur dont le nom m'échappe, permet d'apprécier la fermentation : l'attaque des sucres donne lieu au dégagement de gaz qui montent en partie dans le petit tube formant chambre à gaz. Elle produit également des acides qui peuvent coaguler le blanc d'œuf, déterminant la formation d'un précipité.

lévulose (1). Son action paraît faible sur le lactose, la mannite, et la dulcité; elle n'est pas appréciable en présence de la glycérine et du saccharose.

*Action sur le blanc d'œuf cuit.* — Après plusieurs mois, le cube du blanc d'œuf cuit n'est pas dissous, dans les conditions de culture indiquées plus haut. Il n'y a même pas d'érosion appréciable des bords.

Un seul des échantillons éclaircit un peu le cube d'albumine après 8 à 10 jours; tous les autres le laissent opaque.

#### ACTION PATHOGÈNE.

L'action pathogène du bacille *O. g. m.* est des plus nettes. Elle est susceptible de se manifester sous des formes assez différentes.

La virulence, comme pour toute espèce microbienne, varie d'un bacille à l'autre; on constate à cet égard, entre les divers échantillons, des différences très marquées: il en sera question plus loin.

D'autres circonstances d'ordre général doivent également être connues ou rappelées. La virulence baisse progressivement au fur et à mesure des repiquages en milieux artificiels; cette atténuation est parfois très rapide: c'est ainsi qu'une souche, nettement virulente au début, s'est montrée avirulente après quatre passages successifs en gélose de Veillon. Conformément aux principes établis, il faudra toujours s'adresser aux spores des cultures souches: c'est en effet la spore qui fixe le mieux les caractères de l'espèce. Même en prenant cette précaution, il s'est produit néanmoins une baisse légère de la virulence au bout de plusieurs mois.

On observe de même des différences appréciables suivant les milieux de culture; on obtient des résultats non identiques suivant qu'on part du bouillon Martin ou du bouillon glucosé cultures totales: le premier est plus toxique, alors que le second est plus riche en microbes. Il conviendra donc toujours de préciser quel milieu a été utilisé pour les cultures d'inoculation.

Observation analogue, en ce qui concerne l'âge des cultures. Peu toxiques au début, elles le deviennent davantage dans la suite: aussi les effets produits avec des cultures jeunes et des cultures âgées ne sont-ils pas toujours superposables.

On connaît également l'influence de la voie d'inoculation. L'objet de nos recherches était avant tout de chercher à reproduire chez l'animal des

(1) En bouillon Martin, ne renfermant pas traces de sucre, il y a néanmoins à peu près toujours un léger dégorgement gazeux. Cette production de gaz est peut-être due à une attaque de substances albuminoïdes; de nouvelles recherches sont nécessaires à ce sujet.



lésions analogues ou identiques aux lésions observées chez l'homme au cours de certaines formes de gangrène gazeuse.

A ce point de vue, notre guide doit être l'observation; or les dissections anatomiques montrent que la gangrène gazeuse humaine est presque toujours — sinon toujours — d'origine musculaire. C'est pour cette raison essentielle que la voie musculaire a été généralement utilisée.

Le bacille a été inoculé chez trois espèces de laboratoire : cobaye, lapin, souris. Le cobaye et le lapin se sont montrés très réceptifs; aux mêmes doses et par la même voie, le lapin succombe en général à peu près en même temps que le cobaye. Proportionnellement au poids, le lapin est donc plus sensible. Pour l'étude des lésions, les deux espèces peuvent être utilisées. La souris se prête moins bien à l'étude anatomique, en raison du faible volume des masses musculaires; aussi n'a-t-elle pas été utilisée de manière suivie. Il suffit de signaler une fois pour toutes qu'elle se montre également sensible aux inoculations, avec lésions très analogues à celles qu'on reproduit chez le lapin ou le cobaye.

\*  
o \*

INOCULATION DE BACILLES SEULS. — Expérimentalement, le bacille *O. g. m.* se montre toxique; une part de son action pathogène est due à la toxine. La toxine se forme dans les cultures comme dans l'organisme; mais dans la pathogénie de la gangrène gazeuse humaine, il est de toute évidence que le germe est inoculé seul, sans toxine; si l'on veut ne pas trop s'éloigner du mécanisme de l'infection naturelle, il convient donc d'étudier tout d'abord les réactions que provoque chez l'animal l'inoculation de microbes seuls, débarrassés de la toxine qui les accompagne dans les cultures.

Les procédés de préparation sont simples: une culture de vingt-quatre heures en bouillon Martin est centrifugée; le culot, débarrassé du liquide surnageant, est dilué dans l'eau physiologique. Ou bien on filtre la culture sur bougie Chamberland; on fait filtrer ensuite de l'eau physiologique, et le dépôt formé sur la paroi est finalement repris dans une quantité d'eau physiologique telle, que l'émulsion obtenue présente une turbidité comparable à celle que donne l'émulsion dans 50 cent. cubes d'eau physiologique, d'une culture de bacille typhique (1) vingt-quatre heures sur gélose inclinée

(1) Échantillon *amb.*, de l'Institut Pasteur.

(tube 15 × 15). Les doses faibles, suivant les échantillons, ont varié de 0,3 à 1,5 cent. cube, les doses fortes de 0,6 à 2,5 cent. cubes. Le culot ou le dépôt, ainsi débarrassé de toxines, sont inoculés dans les muscles du lapin et du cobaye. Pour cette expérience, il est plus rigoureux d'opérer chez le lapin; les masses musculaires étant plus volumineuses, on a plus de facilité pour inclure l'émulsion injectée en plein tissu musculaire, alors que chez le cobaye, une partie du liquide peut refluer dans les interstices des muscles. Mais, d'autre part, certaines lésions sont plus apparentes chez le lapin, d'autres le sont davantage chez le cobaye. Il faut donc étudier les effets de l'injection sur les deux espèces animales.

*Chez le cobaye inoculé de doses faibles*, dans les muscles de la cuisse ou de la fesse, la réaction locale est apparue d'abord sous forme de tuméfaction en masse, au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures, suivant les cas; puis la tuméfaction s'étend à l'aîne, au flanc; la crépitation gazeuse peut exister mais n'est pas constante. La patte inoculée devient froide, glaciale; très tuméfiée, elle présente souvent des teintes diverses localisées: teinte violet livide, brunâtre, jambonnée, ecchymotique, bronzée, verdâtre; il apparaît parfois des phlyctènes. La mort est survenue en soixante à cent heures.

A l'autopsie, on constate des lésions toujours accusées, variables dans leurs détails. *Au point d'inoculation* (fesse), il s'est formé un foyer gazeux, renfermant plus ou moins de sérosité brunâtre ou rosée, avec des bulles gazeuses. Cette cavité, parfois minime, peut occuper un cinquième de la masse de la fesse. Les *muscles* voisins sont atteints: tuméfiés en masse, leurs fibres sont dissociées une à une; tantôt elles sont uniformément pâles, blanchâtres; plus ordinairement certaines parties sont rouge livide, rouge ecchymotique, brun foncé, d'autres sont simplement hyperémiées; d'autres plus limitées sont pâles (par rapport aux muscles sains). Le tissu altéré se rompt ou s'écrase sans effort. Cette lésion musculaire se propage surtout dans la continuité des muscles: l'extension en continuité gagne volontiers toute la cuisse, alors que des masses musculaires, contiguës aux lésions maxima, peuvent paraître presque indemnes. Cet aspect est parfois très démonstratif sur la ligne médiane, où les attaches des muscles, du côté inoculé, peuvent se montrer très atteintes, alors que les attaches tout à fait contiguës des muscles symétriques se montrent à peu près normales, ou beaucoup moins attaquées. Plus loin, au mollet, à la face antérieure de la cuisse, le tissu musculaire est moins altéré.

Dans les muscles les plus atteints, l'incision donne issue à une sérosité teintée en brun, en rouge sombre, en rose; la pression permet parfois de faire soudre quelques bulles gazeuses. Au même niveau, il peut exister des gouttelettes huileuses surnageant le liquide exsudé.

L'œdème infiltre le tissu cellulaire, dans les régions où il se prête à la distension : spécialement dans la région voisine, souvent dans l'aine, les flancs, devant la paroi abdominale, parfois jusqu'aux aisselles. A proximité des lésions, cet œdème est teinté en rose, en rouge brun, en brun livide; plus loin, la coloration est moindre; à la limite, l'œdème est pâle, incolore. Ordinairement consistant, gélatiniforme dans toute son étendue, il ne s'écoule que peu ou pas après section des tissus; en quelques points, spécialement à proximité du point inoculé, il n'est pas rare qu'il soit plus libre dans les tissus et qu'il s'écoule sans difficultés.

L'infiltration gazeuse est variable : parfois limitée à la région inoculée, elle gagne ordinairement l'aine voisine où les bulles peuvent s'accumuler pour former une petite cavité enfouie profondément dans le tissu cellulaire; quelques bulles se retrouvent encore assez fréquemment dans le flanc voisin et dans l'aine opposée, rarement plus loin.

Plus inconstantes, mais bien intéressantes sont les *transformations nécrotiques* de certains tissus. On note assez souvent une teinte blanc jaunâtre, avec une sorte de coagulation en masse du tissu cellulo-adipeux et fusion des divers plans anatomiques superposés, spécialement à la région pubienne et au voisinage du point d'inoculation : l'aspect est à peu près celui d'un bloc de mastic. Plus rarement, le tissu cellulaire et la peau ont pris une teinte verdâtre, ou une teinte brun livide qui rappellent les transformations des tissus sur le cadavre.

Certains viscères sont plus ou moins touchés : le foie se montre presque toujours pâle dans son ensemble, parfois parsemé d'ilots blanchâtres; sur l'estomac, on relève de temps à autre des ecchymoses, sans perforation de la paroi.

La *multiplication des bacilles* dans l'organisme est toujours appréciable en pareil cas, bien que variable d'un germe à l'autre. Ordinairement l'examen direct permet de trouver des bacilles assez nombreux (avec quelques spores) dans la région

inoculée et dans les muscles les plus atteints; ils se montrent plus rares déjà dans l'œdème voisin, et on n'en retrouve plus que très peu ou pas du tout dans l'œdème éloigné de la lésion. Sur le péritoine, la présence des bacilles paraît presque constante; ils sont tantôt nombreux, tantôt extrêmement rares.

Dans le foie, la rate, le rein, les capsules surrénales, les bacilles sont très rares ou ne se retrouvent pas par examen direct. Ensemencé, le sang du cœur donne généralement lieu à culture : une ou quelques colonies par goutte.

Après inoculation de *doses fortes*, la mort survient plus vite, en vingt-quatre à quarante-huit heures. Les lésions sont de même ordre que les précédentes, mais moins accusées à certains égards : la cavité d'inoculation peut faire défaut; l'infiltration gazeuse et l'œdème sont souvent moindres; la multiplication du bacille est variable, considérable pour certains bacilles, faible pour d'autres; la généralisation est inconstante.

L'inoculation de *doses énormes* peut donner des lésions beaucoup moins avancées et beaucoup moins étendues, ressemblant à celles que produit l'inoculation des cultures totales de bacilles très toxiques, avec peu de multiplication des bacilles. Il est évident qu'en pareil cas, très éloigné des conditions naturelles, l'organisme est comme sidéré d'emblée.

\*  
\*  
\*

Chez le lapin, l'inoculation de *doses faibles*, dans le tissu musculaire de la fesse, a amené la mort en trente à cinquante heures. Les lésions constatées rappellent dans leurs grands traits celles que nous avons vues chez le cobaye; certaines plus perceptibles frappent davantage. Là encore, au premier examen, les lésions fondamentales sont évidentes : œdème, altérations musculaires, infiltration gazeuse; la région atteinte dégage une odeur forte et typique, identique à l'odeur de la plupart des gangrènes gazeuses humaines. L'œdème, tantôt minime, tantôt amassé sur 2 centimètres d'épaisseur vers la région inoculée, gagne l'aine, le flanc, parfois davantage; pâle à la limite, souvent rosé ou hémorragique vers l'aine, plus livide, violacé, autour de la région inoculée. L'infiltration gazeuse est de même apparente : les gaz se retrouvent comme chez le cobaye, entre les muscles, et à distance plus ou moins grande, souvent vers l'aine où ils peuvent former une véritable écume : on les voit dessiner à la surface de la cuisse, dans le tissu musculaire qui enrobe la masse musculaire, une



sorte de manchon. Les *altérations musculaires* surtout peuvent être ici étudiées avec fruit. Dans la région inoculée, le muscle est tuméfié, les fibres sont dissociées, nettement séparées une à une, leur consistance est diminuée, elles s'écrasent à la pression; à la section de la masse, le tissu musculaire fait hernie dans l'incision; la surface laisse suinter une sérosité colorée, rosée ou brunâtre; à la pression, parfois même spontanément, il sort de fines bulles gazeuses qui viennent crever en bouillonnant. Une observation attentive permet de se rendre compte que ces bulles gazeuses viennent bien du tissu musculaire lui-même (et non du tissu conjonctif intermusculaire). Parfois, le muscle paraît creusé de petites logettes vides. Suivant les points, le tissu musculaire altéré se montre de coloration anormale, ici rouge sombre, livide, ailleurs rouge vif, de teinte hémorragique, ailleurs encore pâle, décoloré; ces alternatives de teintes peuvent se retrouver sur la surface de section d'un seul muscle, des plages blanchâtres alternant avec des zones vivement colorées. Dans l'ensemble, c'est le ton foncé qui domine : la masse inoculée est beaucoup plus colorée que la région symétrique, quand cette dernière est indemne. La décoloration avec teinte blanchâtre du muscle se voit de préférence soit à l'origine de la lésion, dans le foyer initial, soit à sa limite, au delà des muscles foncés : cette décoloration paraît répondre à deux processus ou à deux stades différents de l'infection, l'un initial, l'autre tardif (1).

En résumé, l'inoculation intramusculaire de bacilles virulents débarrassés de toxine provoque des lésions multiples : altérations musculaires, plus ou moins profondes et étendues, plus faciles à étudier chez le lapin; œdème, ordinairement considérable, coloré au voisinage de la lésion, pâle ou incolore à distance; infiltration gazeuse, prédominant au point d'inoculation et dans la masse voisine, susceptible de s'étendre un peu

(1) Il en est exactement de même dans une des formes les plus habituelles de la gangrène gazeuse humaine. Dans cette forme, la lésion musculaire occupe à peu près la valeur d'un segment de membre. La fraction du muscle la plus atteinte est très ramollie et plus ou moins décolorée, souvent elle forme bouillie; autour, le muscle est au contraire plus rouge, rouge sombre ordinairement, également très ramolli; à plus grande distance, et généralement sur d'autres muscles, on retrouve un tissu décoloré et dont la consistance est moins diminuée.

au delà, moins étendue que l'œdème; chez le cobaye, tendance nécrotique. La multiplication du bacille dans l'organisme est appréciable, au moins après inoculation de doses faibles.

\*  
\*  
\*

INOCULATION DE TOXINE. — Aux lésions provoquées par l'inoculation de microbes seuls, débarrassés de toxine, il est bon de comparer maintenant les lésions provoquées par l'inoculation de toxine seule (1).

Inoculée dans les muscles du cobaye, à dose de 0,03 à 2 cent. cubes, la toxine provoque l'apparition d'une tuméfaction œdémateuse dure, et l'animal succombe en 24 à 48 heures environ. Les doses plus fortes tuent plus rapidement, parfois en 9 heures.

A l'autopsie, les lésions constatées sont sensiblement les mêmes dans les différents cas. Un œdème incolore, gélatineux, s'est développé à partir du point d'inoculation. Après injection dans les muscles de la cuisse, l'œdème occupe généralement les deux aines, l'un des flancs ou les deux, atteint parfois l'aisselle. On ne voit pas d'infiltration gazeuse appréciable; inconstamment, quelques bulles erratiques. La masse musculaire inoculée se montre tuméfiée, les fibres sont quelque peu dissociées par l'infiltration séreuse; elles sont pâles, mais peu altérées. Les muscles abdominaux et thoraciques se montrent volontiers légèrement décolorés, comme lavés. Les altérations viscérales sont faibles, ordinairement représentées par une légère décoloration du foie.

Quand, la dose étant plus faible, l'évolution est plus lente, l'animal s'amaigrit avec une rapidité remarquable, en même temps que l'œdème se développe; après plusieurs jours, l'œdème mobile, peut se déplacer vers les points déclives; il peut même se résorber en entier ou en partie. La mort est tardive (5 à 10 jours).

La toxine soluble détermine donc des lésions très nettes : œdème surtout, avec légère altération du foie, sans grosse alté-

(1) L'étude de la toxine, déjà faite en partie (V. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 22 octobre 1915), sera reprise en détail plus tard. Pour le moment, il suffira de rappeler qu'on peut obtenir un filtrat doué de propriétés toxiques, en filtrant une culture en bouillon Martin âgée de 2 à 6 jours.

ration musculaire, sans infiltration gazeuse appréciable, sans tendance nécrotique bien accusée.

\*  
\* \*

INOCULATION DE CULTURES TOTALES. — L'inoculation de cultures totales en milieux liquides demeure le procédé habituel d'épreuve; c'est ce procédé qui a été utilisé le plus ordinairement. Ce que nous venons d'apprendre de l'action séparée des microbes d'une part, de la toxine de l'autre, facilitera beaucoup l'interprétation des effets constatés.

Nous étudierons comparativement l'action produite par l'inoculation de cultures en bouillon Martin, âgées de 24 heures. La dose communément employée (lapin et cobaye) est de 1 centimètre cube; la plupart des bacilles produisent d'ailleurs les mêmes effets à dose bien moindre. Pendant la vie, les phénomènes se passent sensiblement comme nous l'avons vu plus haut (inoculation de bacilles privés de toxine); les souches les plus virulentes amènent des réactions plus précoces, perceptibles en 5 à 10 heures. La mort survient en moyenne en 9 à 36 heures.

Les lésions constatées à l'autopsie sont toujours du même ordre, mais leur degré de développement présente quelques légères variations. L'ensemble des observations permet de constituer deux types principaux.

1° Dans un premier type, les lésions ne diffèrent pas sensiblement de celles qui ont été signalées chez les animaux victimes de l'inoculation des microbes seuls, débarrassés de toxine: lésion locale; altérations musculaires intenses dans le voisinage; œdème, infiltration gazeuse, tendance nécrotique, altérations viscérales, multiplication des germes dans l'organisme, on retrouve ici toutes les manifestations précédemment signalées.

Dans ce premier mode d'évolution, tout se passe comme si on avait inoculé le microbe seul, sans toxine.

2° Le deuxième type, plus habituel jusqu'ici, se montre un peu différent. L'évolution est ordinairement plus rapide que dans le cas précédent. A l'autopsie, on constate que la lésion locale (au point d'inoculation) est faible, marquée par un petit foyer brunâtre ou rougeâtre, d'où émergent quelques bulles gazeuses; le foyer peut même faire complètement défaut quand la mort est très rapide. Autour du point inoculé, les muscles et leurs interstices se montrent infiltrés par une sérosité incolore, ou

rosée, ou brunâtre; l'altération propre du muscle, parfois apparente sous forme d'hypérémie, est souvent nulle ou très faible. Ce qui domine en pareil cas, c'est l'œdème; œdème pâle, gélatiniforme, incolore, ou légèrement teinté, rose ou brun, près du point d'inoculation; très étendu, couvrant comme un vaste bouclier les deux aines, la paroi abdominale, les deux flancs, la base du thorax, tout ou partie des aisselles. Ce lac d'œdème est d'autant plus frappant que son épaisseur est considérable, mesurant ordinairement 1 centimètre, et en bien des points 2 centimètres et davantage.

Par contre, l'infiltration gazeuse est toujours faible, limitée à la lésion locale, quelques bulles discrètes et erratiques atteignant parfois un peu l'œdème le plus voisin : les bulles gazeuses doivent être cherchées, sans quoi elles passent facilement inaperçues. Il n'est pas exceptionnel d'ailleurs que les gaz fassent complètement défaut. En tout cas, l'infiltration gazeuse n'est qu'un fait tout à fait accessoire dans l'ensemble des lésions anatomiques.

Les lésions à distance sont inconstantes. Les muscles du thorax sont tantôt un peu décolorés, tantôt normaux. Parfois pâle, le foie ne montre le plus souvent aucune altération appréciable.

A l'examen direct, les bacilles se rencontrent dans la lésion locale, près du point d'inoculation. Plus loin, les faits sont inégaux : tantôt les bacilles sont rares, mais néanmoins on peut les déceler assez loin, surtout dans l'œdème voisin, et un examen approfondi permet d'en découvrir des exemplaires isolés sur le péritoine; tantôt on ne trouve aucun bacille ni dans les muscles voisins, ni dans l'œdème, ni sur le péritoine : on peut éprouver quelque difficulté à les retrouver, même dans la région d'inoculation. Les cultures corroborent ce qu'a montré l'examen direct : bacilles peu nombreux localement, rares ou absents à distance. Le sang du cœur ensemencé ne donne pas de culture (à dose de 4 à 5 gouttes). Ce qui est frappant dans cette répartition des microbes, c'est l'absence ou le faible degré de leur multiplication et de leur progression. Dans les cas les plus accusés, on a l'impression de recueillir un nombre de bacilles qui n'est pas très supérieur à celui qui a dû être inoculé; de tels bacilles végètent dans l'organisme du cobaye à peu près



comme le ferait le bacille tétanique : il tue, mais sans se multiplier sensiblement.

*Résumons* : le deuxième type de lésions consécutives aux inoculations de cultures totales en bouillon Martin comporte essentiellement de l'œdème, incolore ou à peine coloré, gélatiniforme, étendu, non gazeux (ou d'une manière insignifiante), avec une lésion locale et des altérations musculaires effacées, ou même imperceptibles ; la multiplication des microbes dans l'organisme demeure faible et très limitée.

\*  
\* \*

Est-il de quelque utilité de spécifier que les deux descriptions précédentes sont présentées comme répondant à deux formes anatomo-cliniques *d'une seule et même infection* ?

Ces deux formes sont isolées et chacune d'elles étudiée séparément, mais, de l'une à l'autre, il existe toute une série de formes de passage en ce qui concerne non seulement la physiologie d'ensemble des lésions, mais encore chacun des éléments de cet ensemble.

Sans chercher très loin, le souvenir des lésions provoquées respectivement et par la toxine, et par les microbes débarrassés de toxine, peut nous servir sinon d'interprétation définitive, tout au moins de guide. Dans le groupe des lésions dues aux cultures totales, le premier type rappelle l'inoculation de microbes seuls, et le deuxième diffère peu de ce que nous a donné l'inoculation de toxine.

Dès lors on doit admettre l'interprétation suivante : les cultures totales agissent à la fois par leurs microbes et par leurs toxines. Lorsque la souche est peu toxique ou lorsque la toxine ne se forme que tardivement (après 24 heures), la culture totale agit comme le font les microbes débarrassés de toxine. Si, au contraire, le bacille est nettement toxique, — ce qui est la règle — la culture totale agit à la fois par les microbes, et par la toxine préformée : les lésions ressemblant d'autant plus à celles produites par la toxine, que cette dernière est plus abondante.

Cette interprétation est certainement exacte dans la plupart

des cas, mais elle ne paraît pas devoir être schématisée : car certains des bacilles étudiés, bien que comptant parmi les plus fortement toxiques, donnent cependant chez l'animal des lésions rappelant surtout celles du premier type ci-dessus, y compris la multiplication des bacilles à distance. Le pouvoir infectant du bacille ne semble donc pas être uniquement subordonné dans tous les cas à son pouvoir toxique.

AUTRES INOCULATIONS. — Nous venons d'étudier l'action des cultures en bouillon Martin, âgées de 24 heures. Quand on sort de ces conditions, les résultats changent plus ou moins.

*Plus âgées*, surtout après 4 à 6 jours, les cultures sont plus toxiques, et leur action s'en ressent : les lésions sont alors à peine différentes de celles que produit la toxine seule.

*En bouillon glucosé* (à 2 p. 100), la végétation du microbe est plus forte en même temps que la toxine paraît se former moins facilement : les échantillons répondant au deuxième type — lésion œdémateuse incolore après inoculation de cultures en bouillon mixte — donneront volontiers des lésions légèrement différentes, si l'on part du bouillon glucosé. L'œdème se montre souvent un peu plus teinté, la lésion locale plus nette, et la multiplication des germes dans l'organisme est plus appréciable.

Dans les deux cas, inoculation de cultures âgées et inoculation de cultures en bouillon glucosé, les résultats sont conformes à ce qu'on pouvait prévoir d'après l'action respective de la toxine et des germes.

Il convient de signaler en outre, à titre de comparaison, les effets produits par l'inoculation de doses limites, de même que les résultats de l'inoculation sous-cutanée.

*Doses limites.* — Nous appellerons doses limites, celles qui sont juste suffisantes pour amener la mort tardivement, après 8 à 12 jours. Essayée pour 2 échantillons, cette dose limite a atteint respectivement  $\frac{1}{3}$  et  $\frac{1}{8}$  de cent. cube. Les lésions constatées à l'autopsie ne sont pas sans intérêt : elles comportent l'œdème gélatiniforme plus ou moins étendu, dans le tissu cellulaire, et localement une sorte de transformation lardacée d'une partie du tissu musculaire dans la région inoculée; avec ou sans autres altérations peu importantes, cavité au point inoculé, hyperémie musculaire du voisinage. Peu ou pas d'infiltration gazeuse. La végétation microbienne est minime; on retrouve quelques bacilles dans la lésion locale, il n'en existe pas à distance ni sur le péritoine. Il semble que l'infection ait pu juste en quelque sorte prendre pied, l'animal succombant moins à l'infection proprement dite qu'aux suites de l'intoxication générale, avec un minimum de lésions anatomiques (1).

*Inoculation sous-cutanée.* — Jusqu'ici nous avons eu en vue exclusivement l'inoculation intramusculaire. Expérimentalement, l'inoculation sous-cutanée

(1) Cette forme anatomique est la reproduction à peu près exacte de ce qu'on trouve chez l'homme dans une forme spéciale de gangrène gazeuse, appelée par les cliniciens *érysipèle blanc*. Cette forme apparaît un peu tardivement; mais sitôt démasquée (par l'œdème), elle évolue rapidement; pronostic très sombre.

produit des effets analogues : aux doses employées pour l'injection dans les muscles, la mort se produit dans des délais semblables.

A l'autopsie, on note un œdème très étendu, plus ou moins coloré, plus ou moins gazeux à son point de départ, incolore et non gazeux à distance ; les muscles les plus voisins peuvent se montrer tuméfiés et infiltrés par la sérosité. La dégénérescence (état pâle) du foie est ordinairement plus marquée, de même que les diverses manifestations de la tendance nécrotique de la peau et du tissu cellulo-adipeux : durcissement, teinte livide ou mastic. La végétation du bacille se montre le plus souvent assez nette, plus intense qu'après inoculation intramusculaire.

\*  
\* \*

Jetant un regard d'ensemble sur l'action pathogène du bacille *O. g. m.*, on est amené à conclure que les lésions provoquées expérimentalement semblent être fonction de deux facteurs, qui ne s'excluent pas l'un l'autre : d'une part les propriétés toxiques *in vitro* et *in vivo*, d'autre part le pouvoir infectant propre du microbe. L'action toxique se traduit surtout par l'œdème et par une atteinte profonde de l'état général. L'action propre du microbe se porte sur les tissus où il prolifère : altérations musculaires, infiltration gazeuse, tendance nécrotique en divers points.

Quant au degré de multiplication des germes dans l'organisme, il est subordonné au moins en grande partie au pouvoir toxique ; les bacilles ne se multiplient que dans la mesure où l'action des toxines se montre insuffisante.

## PLANCHE I

## BACILLE DE L'ŒDÈME GAZEUX MALIN.

FIG. 1. — Sérosité péritonéale, cobaye. — Bacilles courts ou moyens; courtes chaînettes. Les bacilles sont entourés d'un espace clair.

FIG. 2. — Culture de dix-huit heures en bouillon Martin. — Cils (coloration par le van Ermengen modifié). Les bacilles sont entourés d'un espace clair; la plupart des cils sont insérés sur le bord de l'espace clair, non sur le corps microbien.

FIG. 3. — Muscle de cobaye inoculé, laissé à l'étuve pendant quarante-huit heures. — Spores colorées.

FIG. 4. — Colonies isolées en milieu de Veillon; examen à la loupe. Grossies cinq fois environ :

- A. — Formes normales. Culture de trente-six heures. Voir le noyau, l'auréole, l'irrégularité du contour, la diversité des formes, l'inégalité de dimensions.
- B. — Formes normales. Troisième et quatrième jour. Condensation : plages claires et autres opaques.
- C. — Formes normales. Troisième et quatrième jour. Dislocation; formation de saillies périphériques.
- O. — Formes atypiques. Culture de trente-six heures. Auréole très développée. Expansions filamenteuses très nombreuses, se perdant dans le milieu.

Figures dessinées par M. LEGENDRE, à qui je suis heureux d'adresser mes bien vifs remerciements.

---

Le Gérant : G. MASSON.





Fig. 1.

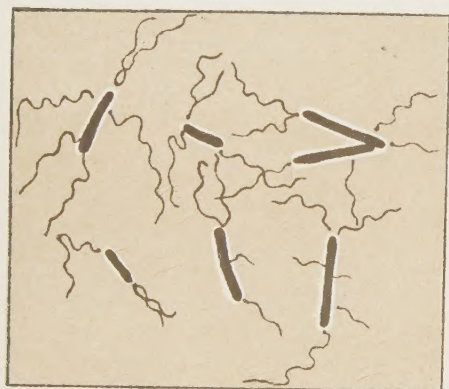


Fig. 2.



Fig. 3.

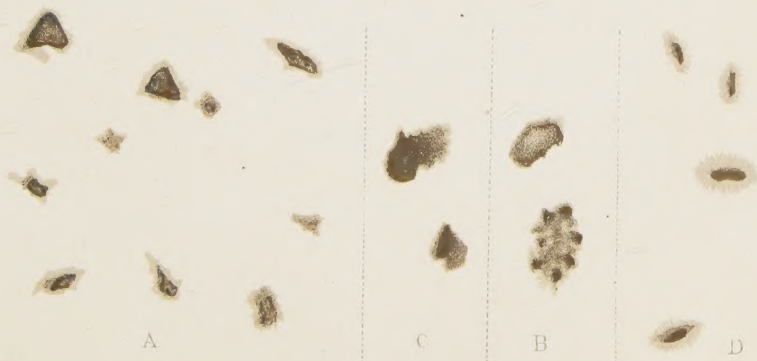


Fig. 4.

